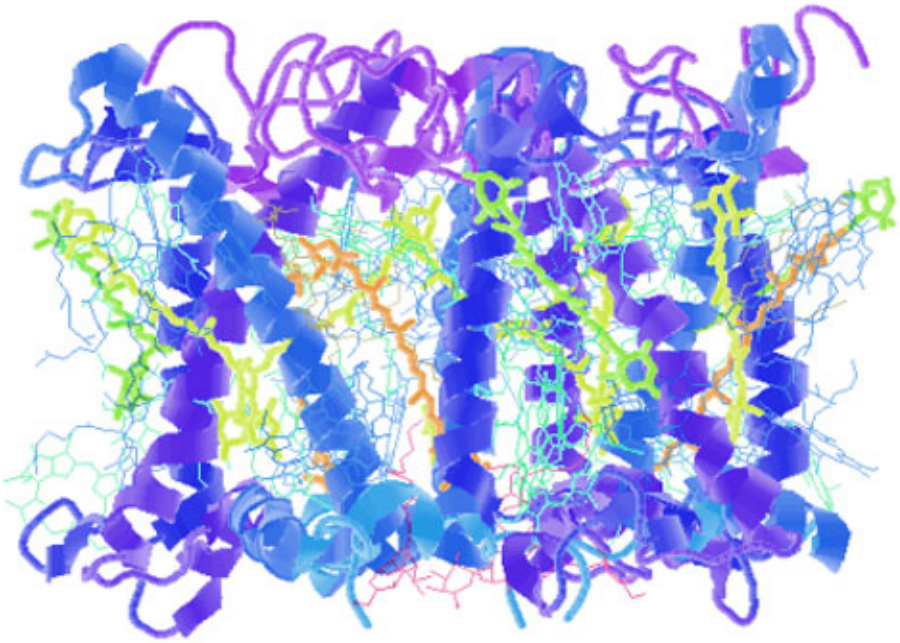
EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR



A NÖVÉNYI ANYAGCSERE ÉLETTANA

Dr. BRATEK ZOLTÁN
Dr. FODOR FERENC
Dr. KIRÁLY ISTVÁN
Dr. NYITRAI PÉTER
Dr. PARÁDI ISTVÁN
Dr. RÁCZ ILONA
Dr. RUDNÓY SZABOLCS
Dr. SÁRVÁRI ÉVA
Dr. SOLTI ÁDÁM
Dr. SZIGETI ZOLTÁN
Dr. TAMÁS LÁSZLÓ

A növényi anyagcsere élettana

Dr. Bratek Zoltán (4. fejezet)
Dr. Fodor Ferenc (2. fejezet)
Dr. Király István (11. fejezet)
Dr. Nyitrai Péter (3. és 5. fejezet)
Dr.Parádi István (12. fejezet)
Dr. Rácz Ilona (1. és 9. fejezet)
Dr. Rudnóy Szabolcs (7. fejezet)
Dr. Sárvári Éva (6. fejezet)
Dr. Solti Ádám (3. fejezet)
Dr. Szigeti Zoltán (10. fejezet)
Dr. Tamás László (8. fejezet)

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A növényi anyagcsere élettana

írta Dr. Bratek Zoltán (4. fejezet), Dr. Fodor Ferenc (2. fejezet), Dr. Király István (11. fejezet), Dr. Nyitrai Péter (3. és 5. fejezet), Dr.Parádi István (12. fejezet), Dr. Rácz Ilona (1. és 9. fejezet), Dr. Rudnóy Szabolcs (7. fejezet), Dr. Sárvári Éva (6. fejezet), Dr. Solti Ádám (3. fejezet), Dr. Szigeti Zoltán (10. fejezet), és Dr. Tamás László (8. fejezet)
szerkesztő:
Dr. Fodor Ferenc
Az ábrákat készítették:
Dr. Fodor Ferenc, Klement Szilvia, Merényi Zsolt, Dr. Nyitrai Péter, Dr. Parádi István, Páldi Katalin, Dr. Rudnóy Szabolcs, Dr. Sárvári Éva, Dr. Solti Ádám, Szőnyi Monika
lektor:
Dr. Láng Ferenc, Dr. Takács Imre, Dr. Takács Tünde
Szerzői jog © 2013 Eötvös Loránd Tudományegyetem

E könyv kutatási és oktatási célokra szabadon használható. Bármilyen formában való sokszorosítása a jogtulajdonos írásos engedélyéhez kötött.

Készült a TÁMOP-4.1.2.A/1-11/1-2011-0073 számú, „E-learning természettudományos tartalomfejlesztés az ELTE TTK-n” című projekt keretében. Konzorciumvezető: Eötvös Loránd Tudományegyetem, konzorciumi tagok: ELTE TTK Hallgatói Alapítvány, ITStudy Hungary Számítástechnikai Oktató- és Kutatóközpont Kft.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Tartalom

Előszó viii
1. A növényi genom szerveződése 1
1. 1. Bevezetés 1
1.2. A sejtmagi genom felépítése 1
1.2.1.Történeti áttekintés 1
1.2.2. A sejtmagi genom mérete 2
1.2.3. A sejtmagi genom strukturális és funkcionális szerveződése 7
1.3. Az organelláris genomok szerveződése 14
1.3.1. A plasztiszgenom szerveződése 15
1.3.2. A mitokondriális genom szerveződése 18
1.4. A genom megváltoztatása – transzgénikus növények 20
1.4.1. Transzgénikus növények előállításának lehetőségei 21
1.4.2. A transzgénikus növények előállításának céljai, gyakorlati alkalmazások 24
1.5. Irodalomjegyzék 26
2. A növények vízháztartása, ásványi táplálkozása, transzportfolyamatok 29
2.1. A növények vízháztartása 29
2.1.1. A víz fontosabb tulajdonságai a növényi élet szempontjából 29
2.1.2. A víz mozgása a növényekben 29
2.1.3. A vízmozgást befolyásoló tényezők a növényi sejtben 32
2.1.4. A talaj víztartalma 35
2.1.5. A gyökér vízfelvétele a talajból 36
2.1.6. A víz mozgása a gyökérben 38
2.1.7. Az intakt növény vízfelvételének kohéziós elmélete 38
2.1.8. A transpiráció 40
2.2. Anyagfelvétel, anyagszállítás a növényekben 40
2.2.1. Anyagtranszport a nem ozmotikus térfogatban 41
2.2.2. Anyagtranszport az ozmotikus térfogatban 41
2.2.3. Hosszú távú anyagszállítás 47
2.3. A növények ásványi táplálkozása 52
2.3.1. A talaj, mint tápanyagforrás 53
2.3.2. A rizoszféra 53
2.3.3. Az ásványi anyagok felvétele és a hozam 54
2.3.4. A tápelemek csoportosítása 55
2.4. Ajánlott irodalom 66
3. Fotoszintézis 67
3.1. Bevezetés 67
3.1.1. A fotoszintézis kutatásának története 67
3.1.2. A fotoszintetizáló élőlények 68
3.2. Fotoszintetikus pigmentek 70
3.2.1. Klorofillok 70
3.2.2. Fikobilinek 71
3.2.3. Karotinoidok 72
3.3. A fény abszorpciója 73
3.3.1. Gerjesztési energia átadása 77
3.3.2. A fotokémiai reakció 79
3.3.3. Két fotokémiai rendszer bizonyítékai 79
3.4. A fotoszintetikus struktúrák 81
3.4.1. A fotoszintetikus apparátus nem-pigment kofaktorai 83
3.4.2. Klorofill-protein komplexek 84
3.4.3. Fikobiliproteinek 90
3.4.4. A fotoszintetikus apparátus felépítésében szerepet játszó további fehérjék és komplexek 92
3.5. A fotoszintetikus elektrontranszportlánc 96
3.5.1. A II. fotokémiai rendszer működése 97
3.5.3. A citokróm b_6/f komplex működése 100

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.5.4. Az I. fotokémiai rendszer működése 101
3.5.5. Az elektrontranszportlánc által szállított elektronok útja: lineáris és ciklikus elektrontranszport 103
3.5.6. Fotoszintetikus elektrontranszportlánc bakteriális fotoszintetizáló szervezetekben 104
3.5.7. Fotofoszforiláció 105
3.6. A szén-dioxid megkötése és redukciója 107
3.6.1. A C_3-as CO_2-megkötés felfedezése 107
3.6.2. A Calvin-ciklus reakciói 108
3.6.3. Rubisco 109
3.6.4. A Rubisco-aktiváz 112
3.6.5. A fénylégzés 114
3.6.6. Szén-dioxid koncentráló mechanizmusok 116
3.6.7. A CO_2-megkötés C_4-es útja 117
3.6.8. A CAM-típusú CO_2-megkötés (Crassulaceae Acid Metabolism) 122
3.6.9. C_4-es út egy sejtben 124
3.6.10. A szén-dioxid megkötés ökofiziológiája 125
4. Légzés és szénhidrát anyagcsere 131
4.1 Lebontó (katabolikus) és felépítő (anabolikus) folyamatok a növényi anyagcserében 131
4.2 Szénhidrátok lebontásának anaerob szakasza a növényi légzésben 131
4.2.1 A glikolízis 132
4.2.2 Az alkoholt képző anaerob lebontás 133
4.3 A szénhidrátok lebontásának aerob szakasza 134
4.3.1. A piruvát trikarbonsavciklusba történő belépésének előkészítése 134
4.3.2 A trikarbonsavciklus 134
4.3.4 A trikarbonsavciklus és a glikolízis szénvázakat biztosít a bioszintézisekhez 137
4.4 A redukált koenzimek oxidációja 138
4.4.1 Mitokondriális elektrontranszport a citokrómokon keresztül és kapcsolt ATP-szintézis 138
4.4.2 A mitokondriális oxidáció alternatív útja (cianidrezisztens légzés) 141
4.4.3 Extramitokondriális oxidáció (direkt végoxidázok) 141
4.5 Az oxidatív pentózfoszfátút 143
4.5.1 A pentózfoszfátútnak oxidatív és regeneratív fázisai vannak 143
4.5.2 A pentózfoszfátút számos bioszintetikus útvonal intermediereinek forrása 145
4.6 A glioxálsavciklus és a glükoneogenezis 145
4.7 A légzési folyamatok szabályozása 145
4.7.1 A légzés finom kontrollja az enzimaktivitások metabolikus szabályozásával 146
4.7.2. Légzési folyamatok kölcsönhatásai egyéb anyagcsereutakkal 148
4.7.3 A légzési aktivitás durva kontrollja a génexpresszió szabályozásával 148
4.8. Ajánlott irodalom 149
5. A növényi lipidanyagcsere 151
5.1. Bevezetés 151
5.2. Zsírsavak 151
5.2.1. A zsírsavak csoportosítása, szerkezete, előfordulásuk 151
5.2.2. A zsírsavak bioszintézise 152
5.3. Neutrális lipidek 156
5.3.1. A neutrális lipidek felépítése 156
5.3.2. Olajtestek 157
5.3.3. Neutrális lipidek szintézise 158
5.4. Foszfolipidek 159
5.4.1. A foszfolipidek felépítése 159
5.4.2. A foszfolipidek bioszintézise 160
5.5. Szfingolipidek - fitoszfingolipidek 162
5.5.1. A szfingolipidek felépítése 162
5.5.2. A szfingolipidek szintézise 164
5.5.3. Fitoszfingolipidek – komplex szfingolipidek 164
5.6. Glikolipidek 165
5.6.1. A glikolipidek szerkezete 165
5.6.2. A galaktolipidek bioszintézise 165
5.6.3. A szulfolipidek bioszintézise 166

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

5.7. Terpenoidok 167
5.7.1. A terpenoidok felépítése 167
5.7.2. A terpenoid bioszintézis kompartmentizációja 169
5.7.3. Terpénosztályok 169
5.7.4. Nyílt szénláncú terpenoid alkoholok – prenolok 172
5.8. Tokoferolok és tokotrienolok a növényben 173
5.9. Viaszok, kutin, szuberin 175
5.10. A zsírsavak és a lipidek szállítása 177
5.11. Lipidek és a membránszerkezet 178
5.12. A lipidek katabolizmusa 180
5.13. A környezet hatása a membránok szerkezetére és összetételére 188
6. Nitrogén- és kénautotrófia 191
6.1. A nitrogén asszimilációja a növényekben 191
6.1.1. Nitrogénfixáció 192
6.1.2. Nitrátasszimiláció 200
6.1.3. Egyéb nitrogéntartalmú anyagok képződése és szerepe a növényekben 206
6.2. A kén asszimilációja a növényekben 207
6.2.1. Szulfátasszimiláció 208
6.3. A szén-, nitrogén- és kénasszimiláció összefüggései 213
6.4. Irodalomjegyzék 214
7. A nukleinsav-anyagcsere speciális növényi vonatkozásai 215
7.1. A DNS szerkezete és jelentősége 215
7.2. A DNS-replikáció 216
7.2.1. A DNS-replikáció általános szabályozása 216
7.2.2. A replikáció mechanizmusa 217
7.2.3. Az organelláris DNS szintézise 220
7.2.4. A telomer és fenntartása 220
7.3. A DNS javítása, módosítása és lebontása 222
7.3.1. A DNS reparációja 222
7.3.2. A DNS metilációja és demetilációja 225
7.3.3. A DNS lebontása 226
7.4. A transzkripció 226
7.4.1. A növényi sejtmagban kódolt gének összetett szerkezete 227
7.4.2. A transzkripciót az RNS-polimerázok katalizálják 227
7.4.3. A transzkripció szabályozása: cisz-elemek és transz-faktorok 230
7.4.4. A génexpresszió epigenetikai szabályozása 231
7.5. Az RNS-ek és anyagcseréjük a növényekben 233
7.5.1. A transzfer RNS 233
7.5.2. A riboszomális RNS 234
7.5.3. A hírvivő (messenger) RNS 235
7.5.4. Egyéb univerzális RNS-ek 235
7.5.5. Speciális funkciójú kis RNS-ek 236
7.5.6. Az RNS-ek érési folyamatai 236
7.5.7. Az RNS-interferencia 240
7.5.8. Az RNS-ek transzportja és lebontása 241
7.6. Felhasznált és ajánlott irodalom 242
8. Az aminosav anyagcsere speciális növényi vonatkozásai 244
8.1. Aminosavak a növényekben 244
8.2. Az aminosavak nitrogénjének eredete 245
8.2.1.Primer nitrogén beépülés 246
8.2.2. Transzaminálás 246
8.2.3. Aminálás glutaminnal 247
8.2.4. Aminálás kapcsolt intermedierek útján 247
8.3. Az aminosavak szénvázának eredete 247
8.4. Az aminosavak bioszintézise 248
8.4.1. A glicin-szerin család aminosavainak képződése 249
8.4.2. A piruvát család aminosavainak szintézise 250
8.4.3. Az aszparaginsav család aminosavainak szintézise 252

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

8.4.4. A glutaminsav eredetű család aminosavainak szintézise 254
8.4.5. Az aromás aminosavak bioszintézise 256
8.4.6. A hisztidin aminosav szintézise 258
8.5. Az aminosav-bioszintézis szabályozása 258
8.6. Az aminosavak átalakulása növényekben 260
9. A fehérje-anyagcsere speciális növényi folyamatai 263
9.1. Bevezetés 263
9.2. A genetikai kód megfejtése, jellemzői 264
9.3. A riboszómák felépítése és funkciója 264
9.4. Az aminoacilálás 265
9.5. A fehérjeszintézis folyamatának áttekintése 265
9.6. Prokarióta típusú transzláció a plasztiszokban és a mitokondriumokban 266
9.6 1. Az iniciáció 267
9.6.2. A peptidlánc elongációja 269
9.6.3. A polipeptid lánc terminációja 271
9.7. Eukarióta típusú fehérjeszintézis a citoplazmában 272
9.7.1. Az iniciáció 272
9.7.2. A peptidlánc elongációja 275
9.7.3. A polipeptid lánc terminációja 276
9.8. A fehérjék intracelluláris transzportja 277
9.8.1. Az intracelluláris transzportutak áttekintése 277
9.8.2. Fehérjetranszport a plasztiszokba 278
9.8.3. Fehérjetranszport a mitokondriumokba 281
9.8.4. Fehérjetranszport a peroxiszómába 283
9.8.5. Fehérjetranszport a sejtmagba 284
9.8.6. Szekréciós fehérjetranszport 286
9.8.7. Fehérjetranszport a sejtfelszíntől az intracelluláris kompartmentek felé: endocitózis 291
9.9. Irodalomjegyzék 292
10. A növényi stressz alapjelenségei 295
10.1. Alapfogalmak 295
10.1.1. A stressz meghatározása 295
10.1.2. A stressz szakaszai 296
10.1.3. A stresszválasz 298
10.2. A szignáltranszdukciós folyamatok vázlatos áttekintése 298
10.2.1. A környezeti jel érzékelése 298
10.2.2. Reaktív oxigén formák (ROS) és szerepük a szignáltranszdukcióban 300
10.2.3. A kalciumion, mint másodlagos hírvivő 300
10.2.4.További jelátvivők 301
10.3. A hőmérsékleti stresszek és kivédésük 304
10.3.1. Alacsony hőmérsékleti stresszek 304
10.3.2. Magas hőmérsékleti stressz 305
10.3.3. A hőmérséklet érzékelése 307
10.4. A látható fény okozta stressz 307
10.4.1. A fotoinhibíció 308
10.5. A nehézfémek okozta stresszek 312
10.5.1. A nehézfémek fiziológiai hatásai 312
10.5.2. A nehézfém-hatások szignáltranszdukciója vázlatosan 313
10.6. Oxidatív stresszek és kivédésük 314
10.6.1. Az oxigén aktiválása 314
10.6.2. Az aktivált oxigénformák képződési helyei 315
10.6.3. Az oxidatív stressz elleni védőmechanizmusok 316
10.6.4. A szignáltranszdukció lehetőségei az oxidatív stressz során 317
11. Univerzális és speciális növényi anyagcsere 319
11.1. Szaharidok 320
11.2. Fenoloidok 323
11.3. Poliketidek 328
11.4. Terpenoidok 331
11.5. Azotoidok 339

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

12. Növényi szimbiózisok élettana 349
12.1. Bakteriális szimbiózisok 349
12.1.1. Növényi növekedést serkentő rizobaktériumok 349
12.1.2. Nitrogénkötő endoszimbiózis a pillangósokban 351
12.1.3. Aktinorhizás szimbiózis 355
12.2. Gomba-gyökér szimbiózis: a mikorrhiza 355
12.2.1. Az arbuszkuláris mikorrhiza (AM) 355
12.2.2. Ektomikorrhiza (EM) 367
12.2.3. Egyéb mikorrhizatípusok 369
12.3. Zárszó 371

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Előszó

E könyv megírását nem csupán a tudományos ismeretek eddig soha nem látott sebességű bővülése, hanem a kétszintű képzésben nyert oktatói tapasztalatok is indokolták. Célunk az volt, hogy a 2002-ben az ELTE Növényélettani Tanszékének munkatársai által megírt Növényélettan. A növényi anyagcsere (szerk. Láng Ferenc) című kötetet felváltsuk, és – az új tudományos eredményeket is felhasználva –, egy olyan új egyetemi tankönyvet készítsünk el, amely megkönnyíti a biológia alapszakos hallgatók vizsgára való felkészülését. Ennek érdekében jelentősen csökkentettük a fejezetek részletességét, és igyekeztünk szemléletes módon, szövegkiemeléssel és ábrákkal hangsúlyozni a legfontosabb ismereteket. A tömörségre való törekvés egyben azt is eredményezi, hogy az ismertetett tananyag nagyban támaszkodik az előzetesen megszerzett, alapvető növényszervezettani és biokémiai ismeretekre.

Könyvünk minden szükséges tudnivalót tartalmaz biológia alapszakos és tanárszakos hallgatók számára a Növényélettan I c. tárgy elvégzéséhez, de részben használható a Növényélettan II, Növényélettan IV c. tárgyakhoz is, és részben elméleti alapját képezi a Növényélettani gyakorlatok (Növényélettan III), illetve az Alkalmazott növénytani gyakorlatok című tárgyaknak.

Budapest, 2013. 06. 27.

Fodor Ferenc

szerkesztő

ELTE Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

1. fejezet - A növényi genom szerveződése

szerző: Dr. Rácz Ilona

1. 1. Bevezetés

A növények növekedéséhez, fejlődéséhez és működéséhez szükséges genetikai információt DNS-molekulák hordozzák, melyek összességét genomnak nevezzük. A genetikai információtartalom három sejtorganellum között oszlik meg a növényi sejtben. Túlnyomó része a sejtmagban található lineáris kétfonalas DNS-molekulákban kódolt, melyek fehérjékkel kölcsönhatásba lépve nagyfokú szerveződés eredményeként (nukleoszómákat kialakítva hiszton fehérjékkel, illetve a nukleáris váz- és szabályozó fehérjék segítségével többszörösen feltekeredve kromoszómákat alkotva) magas rendezettségű, erősen rövidült formában teszik lehetővé a gyakran több méter hosszúságú DNS-molekulák elhelyezkedését a néhány mikrométer átmérőjű sejtmagban. Az információ kisebb része a prokarióta endoszimbionta eredetű autonóm sejtorganellumokban, a plasztiszokban és mitokondriumokban található, általában cirkuláris kétfonalas DNS-molekulák formájában, melyek ugyancsak fehérjék segítségével az organellumok belső membránrendszeréhez kapcsolódnak.

A növény genotípusát meghatározó DNS-molekulák különböző szakaszai eltérő információt hordoznak. Meghatározhatnak fehérjékre vonatkozó információt jelentő géneket, melyek a génexpresszió során hírvivő (messenger) RNS intermedieren át fehérjék formájában nyilvánulnak meg. Meghatározhatnak a fehérjék szintéziséhez szükséges riboszómákat alkotó rRNS-eket, vagy az mRNS-re átírt információ fehérje nyelvre történő lefordításában adaptorként szerepet játszó transzfer RNS-eket. Kódolhatnak továbbá a génexpressziót szabályozó változatos méretű és funkciójú egyéb RNS-molekulákat, melyek részt vesznek a transzkripció során szintetizálódott RNS-ek érésében, módosításában, lebontásában, valamint a génexpresszió transzkripció szintű és transzkripció utáni szabályozásában egyaránt. Jelentős arányban tartalmazhat a genom információt nem hordozó, vagy jelenleg nem ismert funkciójú, gyakran nagy számban ismétlődő DNS-szakaszokat.

A DNS szekvenciájában, a nukleotidok sorrendjében rejlő információn túl a DNS módosítottságában (metiláció), valamint a módosítottsággal összefüggő magasabb rendű szerveződésében (hisztonkód), hozzáférhetőségében (eukromatin, heterokromatin) rejlő epigenetikus információtartalom - mely a növény egyedfejlődési programja, valamint a környezet által szabályozottan nyilvánul meg - együttesen határozzák meg a növény fenotípusát.

Ez a fejezet a sejtmagi és az organelláris genomok szerveződésének sajátságaival foglakozik.

1.2. A sejtmagi genom felépítése

1.2.1.Történeti áttekintés

A növényi genom tanulmányozására irányuló törekvések – melyek a kutatások kezdeti szakaszában főként a genom méretének, a növényi sejt DNS-tartalmának meghatározására irányultak – az 1940–es évek végéig nyúlnak vissza, megelőzve a DNS-molekula kettős spirál szerkezetének megfejtését. Az első, a kromoszómák számának, méretének és szerveződésének változásait tanulmányozó, főként mikroszkópos vizsgálatokat követték a DNS-tartalom kémiai meghatározásán, mikrodenzitometrián, vagy a jelenleg is széles körben használt áramlásos-citometriai módszerrel történő meghatározáson alapuló széleskörű vizsgálatok, melyek segítségével az egyes sejtek DNS-tartalma mérhető. A korai vizsgálatok eredményeinek összegzéseként már 1972-ben létrejött egy lista, mely 273 zárvatermő növény genomjának adatait tartalmazta és a genomméret és a generációs idő összefüggéseinek tanulmányozását célozta. A zárvatermőkön kívül egyéb rendszertani kategóriákba tartózó, főként nyitvatermő növények DNS-adatait is tartalmazó gyűjtemény azonban csak 1998-ban látott napvilágot.

A növényi genom méretének meghatározása mellett a DNS-szekvenálási technikák rohamos fejlődése lehetővé tette teljes genomszekvenciák meghatározását és a genomok sajátságainak szekvencia-alapon történő értékelését. Az első teljes sejtmagi genomszekvencia elkészültéről, mely az *Arabidopsis thaliana*, a számos genetikai és

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

fiziológai szempontból kedvelt modellnövény szekvenciája volt, 2000 decemberében adott hírt a Nature. (Arabidopsis Genome Initiative, http://www.arabidopsis.org (TAIR)). Ezt követően különböző rendszertani kategóriákba tartozó (az algáktól a mohákon és páfrányokon át a magasabb rendű növényekig), de zömében zárvatermő és gyakran gazdasági szempontból is jelentős haszonnövény (pl. rizs, kukorica, burgonya, paradicsom, szőlő, szója, stb.) genomját határozták meg az elmúlt alig több mint egy évtizedben. Ennek eredményeként jelenleg több mint 40 teljes genomszekvencia áll rendelkezésre (http://www.phytozome.net).

Ugyanakkor a DNS-tartalom, a genomméretek megismerésére irányuló törekvések is folytatódnak, melynek alapján széleskörű összehasonlítások végezhetők és következtetések vonhatók le a különböző méretű genomokkal rendelkező növények fiziológiai és életmódbeli, valamint ökológiai és evolúciós sajátságait illetően is. Az adatbázis jelenleg is folyamatosan bővül mind a rendszertani kategóriák, mind pedig a fajok számának tekintetében. (www.kew.org/genomesize/homepage).

1.2.2. A sejtmagi genom mérete

1.2.2.1.C-érték - C-érték paradoxon

A különböző növények sejtmagi genomjának méretét az 50-es évektől használt (Swift által bevezetett, az adott genomra jellemző „constant" DNS-mennyiséget jelentő) C-értékkel jellemzik. A jelenleg elfogadott, pontosított definíció szerint a **C-érték a haploid sejt** (nem replikálódó gaméta) **DNS-tartalma** picogramm (pg) egységben kifejezve. A picogrammban megadott DNS-mennyiség bázispárban, vagy a DNS-molekula hosszában is kifejezhető; 1 pg DNS = 978 x 10^6 bázispár (~ 1 x 10^9 bp), ami ~ 31 cm hosszúságú DNS láncot jelent.

A legújabb, a Royal Botanic Gardens, Kew által fenntartott C-érték adatbázis (http://data.kew.org/cvalues) 8510 faj adatait tartalmazza, melyek túlnyomó része (7542 faj) zárvatermő, de megtalálhatók benne nyitvatermők (355 faj), harasztok (128 faj), mohák (232 faj) és algák (253 faj) adatai is. Összehasonlítva a különböző rendszertani kategóriákba tartozó növények C-értékeit (1. táblázat) jelentős, több nagyságrend méretkülönbség figyelhető meg.

A növények morfológiai és fiziológiai szerveződésének komplexitását figyelembe véve nem tekintjük meglepőnek, ha egy algához képest egy zárvatermő magasabbrendű növény genom mérete egy nagyságrenddel nagyobb. Pl. az egysejtű *Cyanidium caldarium* alga genom mérete 0.01 pg, míg a zárvatermő *Arabidopsis thaliana*é 0,15 pg. Az azonban figyelemre méltó, hogy az *Arabidopsis*tól méretében és alapvető fiziológiai sajátságaiban sokkal kevésbé különböző *Fritillaria assyriaca* C-értéke 127,4 pg. A jelenleg ismert legkisebb genomú magasabbrendű növény, a rovaremésztő *Genlisea margaretae* (C = 0,0648 pg), valamint az ugyancsak zárvatermő, a Liliales rendbe tartozó legnagyobb genomú *Paris japonica* (C = 152,23 pg) között hasonlóan nagy, több mint 2400-szoros különbség van. Vagyis nemcsak a különböző fejlettségi fokú növények körében, hanem szűkebb rendszertani kategóriákon belül is jelentős genomméret különbségek figyelhetők meg. Tehát a növényi genom mérete nincs szoros összefüggésben a szervezet fejlettségi fokával, komplexitásával, a gének számával. Ezt a jelenséget nevezzük **C-érték paradoxon**nak.

1.1. táblázat Különböző rendszertani kategóriákba tartozó növények C-értékeinek összehasonlítása

C-érték (1pg = 10 ^{9} bp) / Rendszertani kategória	**Minimum pg**	**Maximum pg**	**Átlag pg**	**Számolásnál figyelembe vett fajok száma**	**Rendszertani kategória hozzávetőleges fajszáma**
Algák					
Chlorophyta	0,01	19,60	1,68	91	6500
Rhodophyta	0,01	1,40	0,41	118	6000
Phaeophyta	0,10	0,90	0,44	44	1500
Briophyta	0,17	2,05	0,51	176	18000
Pteridophyta					
Lycophyta	0,17	11,97	1.95	9	900
Monilophyta	0,44	72,68	11,86	78	11000

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

Gymnospermae	2,30	36,00	18,50	207	730
Angiospermae	0,06	127,40	6,51	4427	250000

1.2.2.2. A genomméret változatosságának okai növényeknél

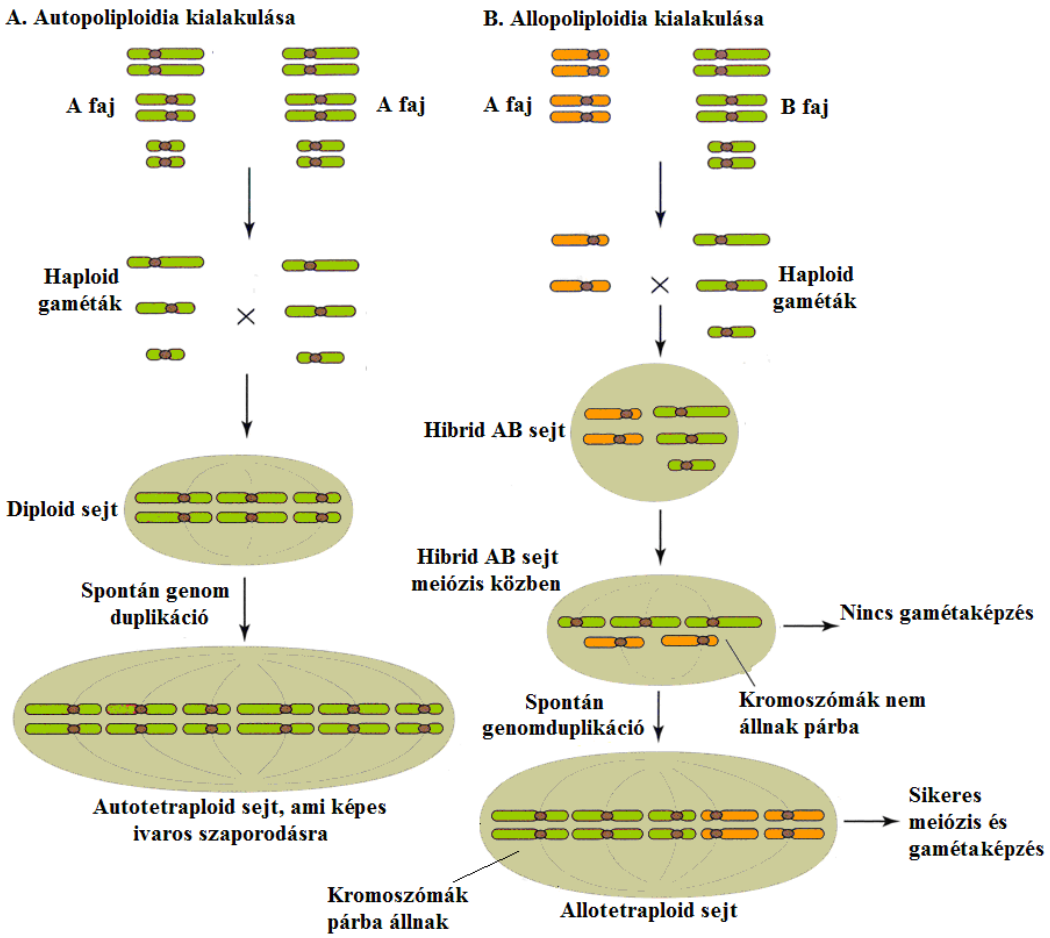
1.2.2.2.1. A ploidia fokának növekedése az evolúció során

A genomméret növekedésének egyik oka az evolúció során bekövetkezett poliploidizáció. Az élőlények jelentős hányadához hasonlóan a növényi sejtek többnyire diploidok, a két szülői haploid kromoszómakészlettel (n) rendelkező ivarsejt fúziójából kialakuló zigóta (2n) sejtjeinek további osztódásával keletkeznek. Nagyon gyakran bekövetkezhet azonban a kromoszómakészlet megduplázódása, vagy többszöröződése (a ploidia fokának növekedése) olyan módon, hogy a DNS megkettőződését, replikációját nem követi sejtosztódás. A sejtosztódás egyszeri, vagy többszöri elmaradása tetraploid (4n), vagy magasabb ploidiafokú sejtek, illetve poliploid genomok kialakulásához vezet. A poliploida kialakulása alapvetően kétféle módon következhet be:

1. a saját genom megsokszorozódásával, ezt nevezzük **autopoliploidiá**nak,

2. két, vagy több külön faj közötti átkereszteződést követő kromoszómaszám duplázódással, vagy sokszorozódással, ezt nevezzük **allopoliploidiá**nak (1.1.B. ábra)

Mindkét típusú poliploidizáció lehet nem szabályosan lejátszódó meiózis eredménye, melynek során nem történik meg a számfelező osztódás. Így a keletkezett diploid gamétákból (2n) a megtermékenyítéskor tetraploid (4n) zigóta jön létre. A sejtosztódás elmaradása bekövetkezhet a normális haploid gaméták (n) fúziójával létrejövő diploid zigóta (2n) szintjén is, mely ugyancsak a diploid kromoszómakészlet megduplázódását eredményezi (2x2n=4n). (1.1.A ábra)



XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

1.1. ábra A genom ploidiafokának növekedése a saját genom megduplázódása (autopoliploidia), illetve idegen fajok közötti kereszteződés (allopoliploidia) következtében

Különböző fajok közötti átkereszteződés során a kromoszómakészlet megduplázódása elengedhetetlen egy ivaros szaporodásra is képes új faj kialakulásához. Ugyanis a két szülő eltérő számú kromoszómát tartalmazó haploid ivarsejtjeinek egyesüléséből keletkezett zigótából (3n + 2n = 5n) kifejlődő növény csak akkor képes ivarsejtek képzésére, ha kromoszóma készlete megduplázódik (5n x 2 = 10n). A meiózis lejátszódásához ugyanis szükség van a homológ kromoszómák közötti párképzésre. Amennyiben a megduplázódás során minden kromoszómának keletkezik homológ párja, az ivarsejtek képződése végbemehet. Ilyen folyamatok eredményezik az **allotetraploid**, illetve egyéb, többszörös ploidiaszintű új fajok kialakulását (1.1.B. ábra).

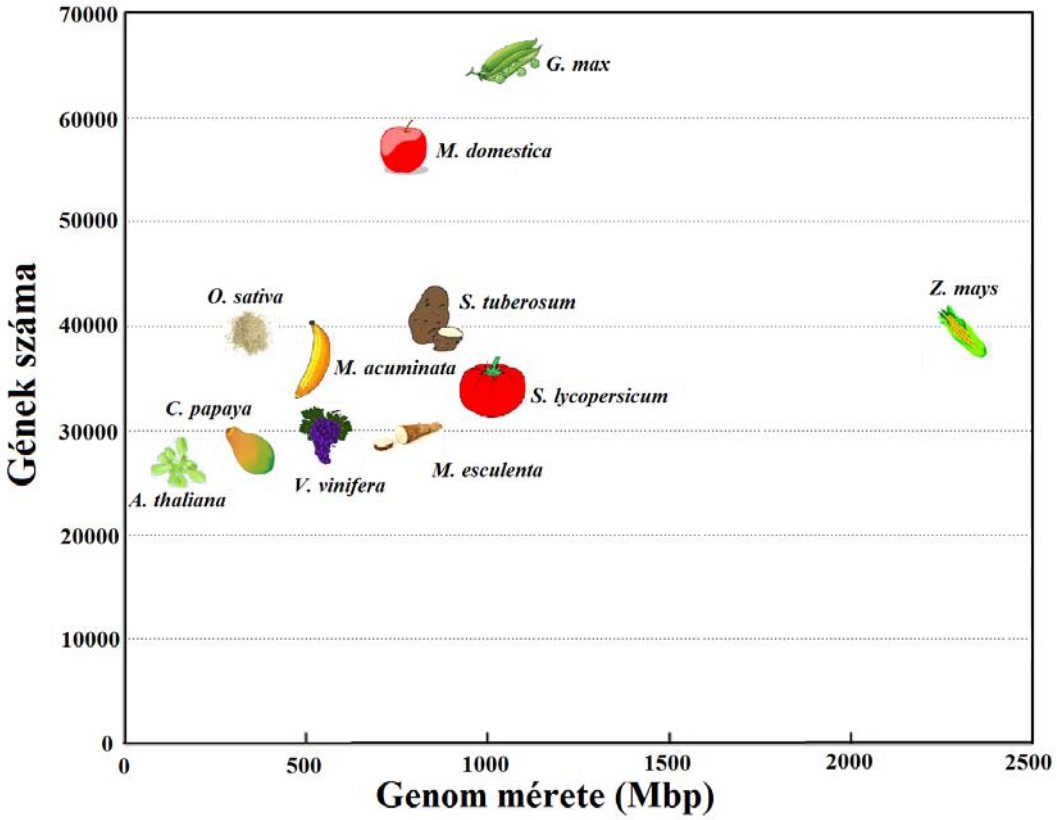
A genomok analízise alapján nyilvánvalóvá vált, hogy a ploidia fokának növekedése, amelynek fiziológiai és evolúciós hatásai egyaránt jelentősek, nagyon gyakori a fajok kialakulása során. (A sokszorozódás időbeli bekövetkezésére géneket kódoló szekvenciák vizsgálatából lehet következtetni, mivel a nem kódoló szekvenciák az evolúció során kisebb szelekciós nyomásnak vannak kitéve és így gyorsabban változnak.)

A poliploidizáció a gének kópiaszámának megnövekedéséhez vezet, melyek az evolúció során elveszhetnek, megtarthatják eredeti funkciójukat, vagy akár más funkcióra tehetnek szert. A genomok analízise azt mutatja, hogy a jelenleg diploidként ismert fajok (pl. *Arabidopsis*, kukorica) evolúciótörténetében is lejátszódott genomduplikáció (paleopoliploid fajok), azonban az ezt követő fokozatos génvesztés a jelenlegi diploid genomok kialakulásához vezetett.

1.2.2.2.2. Nem kódoló szekvenciák jelenléte a genomban

A rendelkezésre álló – főként magasabbrendű növények – teljes genomszekvenciáinak ismeretében elmondható, hogy a növényekben a fehérjéket kódoló gének száma viszonylag szűk határok között mozog, mintegy 25 000 - 60 000 között változik (1.2. ábra), tehát a gének száma nem arányos a genom méretével. A ploidiafok növekedése hozzájárul ugyan a genom méretnövekedéséhez, önmagában azonban nem eredményez olyan nagyfokú különbségeket, melyek megmagyarázhatnák az akár három-négy nagyságrendnyi eltéréseket a hasonló fejlettségű növények genomméretei között (C-érték paradoxon). Ennek az óriási méretdiverzitásnak a magyarázata abban rejlik, hogy a növényi genom igen jelentős arányban tartalmazhat olyan szekvenciákat, melyek nem hordoznak génekre vonatkozó információt, ám nagyon nagy kópiaszámban ismétlődve találhatók meg a genomban. Az ismétlődő szekvenciák a teljes genomnak akár több mint 90 %-át is kitehetik.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



1.2. ábra A genomméret és a gének száma magasabbrendű növényeknél (Hirsch és Buell 2013 alapján)

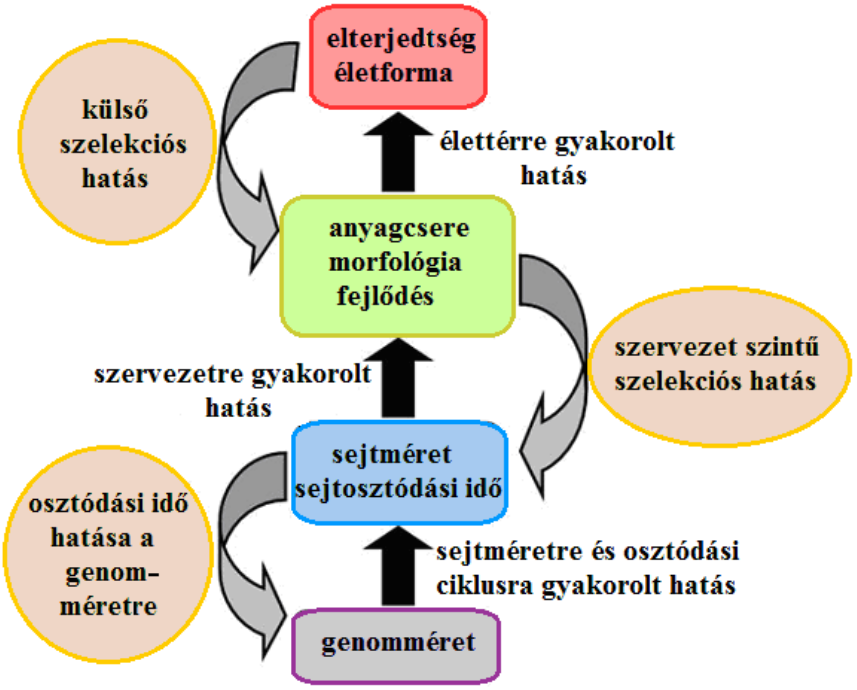
1.2.2.3. A genomméret hatása a növények fiziológiai sajátságaira, környezethez való alkalmazkodására

A genomméret változatossága, a DNS-tartalom jelentős különbségei – bár a növény komplexitását nem tükrözik méretarányosan - megnyilvánulhatnak fenotípusos és fiziológiai jellemzőkben különböző szerveződési szinteken, vagyis a sejtmag és a sejt szintjén, valamint szöveti és szervezeti szinten egyaránt.

Pozitív korreláció figyelhető meg pl. a mitotikus metafázisos kromoszómák térfogata és mérete, a sejtmag és a nukleolusz térfogata és mérete, valamint egyes kitüntetett kromoszómaszakaszok (pl. centromer régió) mérete között. Összefüggés mutatható ki a mitotikus és meiotikus sejtosztódáshoz szükséges idő és a sejtek C-értéke között is. Minél nagyobb a C-érték, általában annál hosszabb időt igényel az osztódási ciklus. Ugyanakkor a növény ploidiafoka, vagy akár környezeti tényezők is befolyásolják. A reproduktív paraméterek (pl. pollentömeg, magtömeg) szintén pozitív korrelációt mutatnak a genommérettel zárvaterműknél.

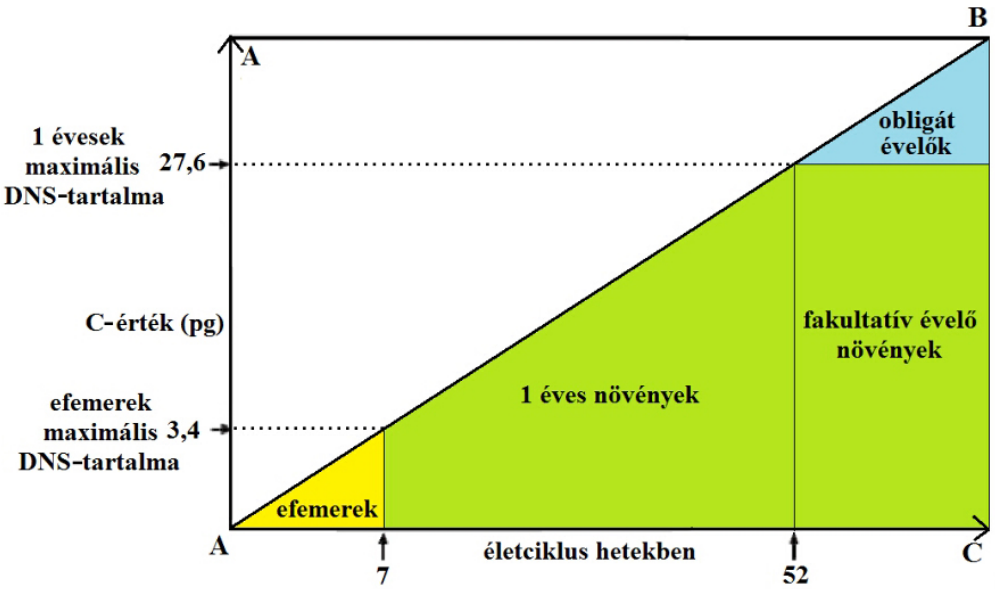
A növények fiziológiai sajátságai, az életciklus időtartama (efemer, egyéves, vagy hosszú élettartamú), vagy a környezethez való alkalmazkodási képesség ugyancsak összefüggést mutatnak a C-értékkel, ezek kapcsolatai a genommérettel azonban jóval bonyolultabbak (1.3. ábra).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



1.3. ábra A genomméret, a sejtméret és osztódási idő, a szervezet morfológiai és fiziológiai, valamint ökológiai sajátságai közötti hierarchikus összefüggések

Megfigyelhető, hogy a rövid élettartamú növények C értéke kisebb (átlagosan 1,5 pg), mint az egyéves (átlagosan 7,0 pg) növényeké. Legnagyobb átlagos C értékkel (átlagosan 27,4 pg) a hosszú élettartamú, perenniális növények rendelkeznek. Közöttük azonban találhatók egészen kicsi C értékkel rendelkezők is; a vadgesztenye (*Aesculus hippocastanum*) C értéke csak mintegy kétszerese az *Arabidopsis*énak. Ugyanakkor a rövid élettartamú növények között nem találhatók nagyon nagy genomokkal rendelkezők; az efemer növények maximálisan 3,4 pg, az egyéves növények pedig 27,6 pg DNS tartalommal rendelkeznek.(1.4. ábra)



1.4. ábra Az életciklus és a C-érték összefüggései (Bennett MD. 1987 alapján)

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

1.2.3. A sejtmagi genom strukturális és funkcionális szerveződése

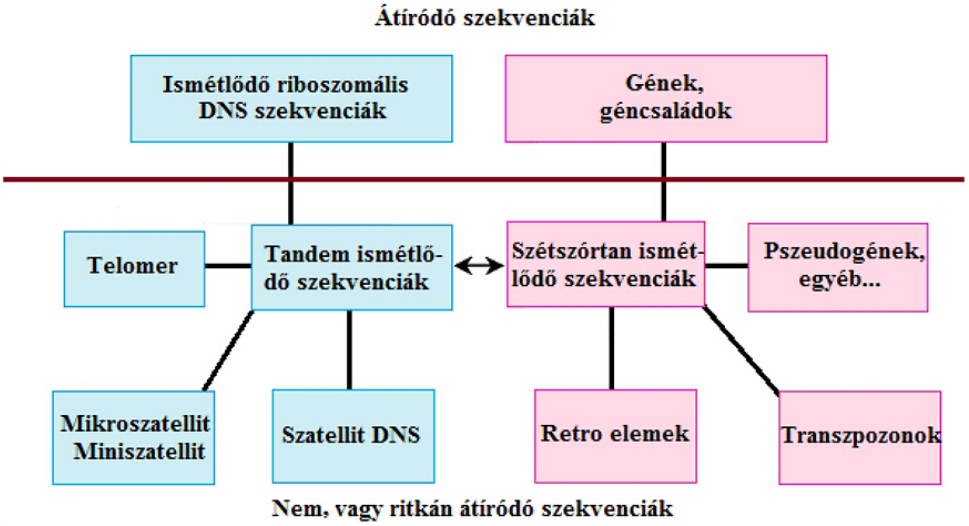
1.2.3.1. Ismétlődő szekvenciák

Az ismert genomszekvenciák eredményeinek alapján elmondható, hogy a géneket kódoló DNS szakaszok aránya viszonylag alacsony a növényi genomokban még a kis genommal rendelkező növények esetében is. Az *Arabidopsis* többmint 26 000 gént tartalmaz 130 Mbp-nyi genomjában, ez azonban – noha több mint a humán genom génjeinek száma – csak a genom mintegy 40 %-át adja.

A sejtmagi genom DNS-tartalmának jelentős részét kitevő ismétlődő szekvenciákat egymáshoz viszonyított elhelyezkedésük alapján két csoportba oszthatjuk.

1. A **tandem ismétlődő** szekvenciák egymást követően, több száztól akár több tízezerszeres kópiaszámban vannak jelen a genomban, jellemző kromoszómarégiókat kialakítva.

2. A **szétszórtan ismétlődő szekvenciák** egymástól elkülönülten találhatók a kromoszómák változatos szakaszain és csak néhány csoportjukra jellemző a nagy kópiaszám.



1.5. ábra Az ismétlődő szekvenciák típusai és transzkripciós aktivitásuk (Schmidt és Heslop-Harrison 1998 alapján)

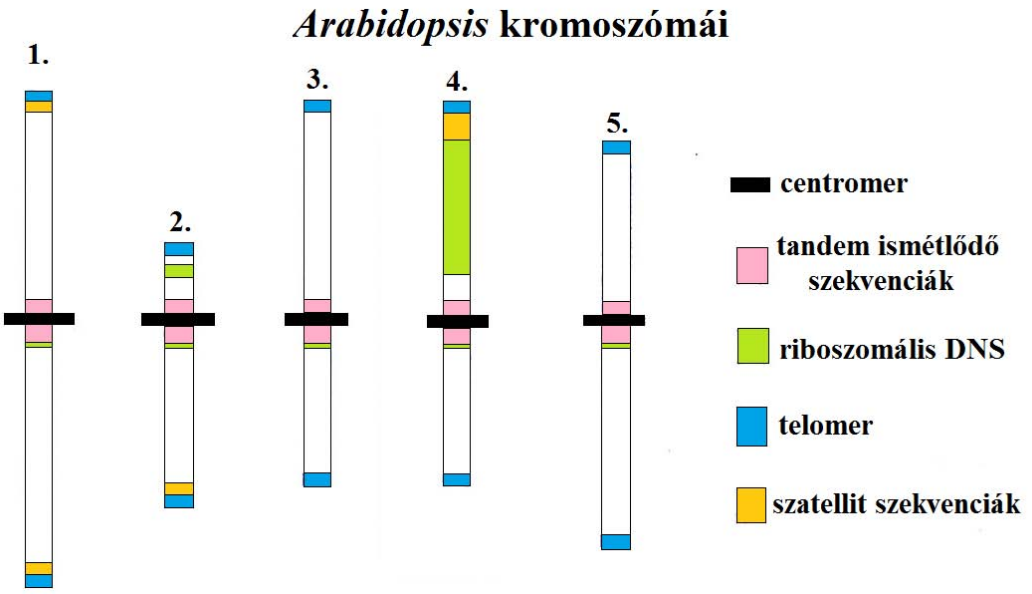
1.2.3.1.1. A tandem ismétlődések szerkezete és funkciója

Szatellit szekvenciák

A tandem ismétlődő szekvenciák fluoreszcens *in situ* hibridizációs technikával láthatóvá tehetők és mikroszkóposan elkülöníthetők a kromoszómán. Ennek alapján megállapítható, hogy a kromoszómák kitüntetett helyein, főként a centromer régiókban, valamint a kromoszómák végein (telomer régió) és ahhoz közeli szakaszokon helyezkednek el. A szekvenciavizsgálatok során kiderült, hogy ezeket a szakaszokat igen nagy kópiaszámban, de nem nagy kópiahűséggel ismétlődő, néhány száz, vagy néhányszor tíz, esetenként azonban tíznél kisebb bázispárnyi egységekből felépülő ismétlődő szekvenciák alkotják. Ezeket az ismétlődődéseket - az ismétlődő szakaszok méretére utaló elnevezés szerint **- szatellit, miniszatellit és mikroszatellit** szekvenciáknak nevezzük. (Az elnevezés egyben arra is utal, hogy a szatellit DNS-eket tartalmazó régiók a nukleáris DNS többi részétől sűrűség grádiens centrifugálással elkülöníthetők.) A szatellit szekvenciák nem hordoznak génekre vonatkozó információt, nem transzkriptálódnak, a kromoszóma kompaktabb, ritkán átíródó heterokromatikus állományát alkotják, általában 130-180 nukleotid hosszúságú ismétlődő szekvenciák. Az *Arabidopsis* mind az öt kromoszómájának centromer régiójában hosszú, 2-6 megabázisnyi szakaszt képviselnek, de kukoricánál akár 9 Mb hosszúságú centromerek is megfigyelhetők egyes kromoszómákon. Az ismétlődések közé egyéb szekvenciák is ékelődnek, pl.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

centromerspecifikus retrotranszopozonok, melyek transzkriptálódhatnak, elősegítve a centromer régió különleges rendeződését biztosító hisztonfehérje változatok és a kromoszómaszakasz funkciója szempontjából ugyancsak fontos speciális kinetokor fehérjék kötődését. A centromer régiók ugyanis szerepet játszanak a kromoszómák párképzésében és a kromoszómák elmozdulásában a sejtosztódás során. A párképzéskor a homológ kromoszómákat összekapcsoló kohezin fehérjék, valamint a kromoszómákat mozgató magorsó fonalak és mikrotubulusok a centromert alkotó szatellit szekvenciák hisztonokkal és egyéb fehérjékkel (pl. kinetokor fehérjék) kialakított kromszómafelszínekhez kapcsolódnak.



1.6. ábra Különböző tandem ismétlődő szekvenciák lokalizációja az *Arabidopsis* kromoszómáin

Telomer szekvenciák

Bár szerkezetüket tekintve mikroszatellit struktúrát képviselnek, a **kromoszómák végein található telomer DNS-szakaszok** szintézisüket és funkciójukat tekintve is elkülöníthetők a kromoszóma egyéb régióin elhelyezkedő szatellit DNS-ektől. Kialakulásuk egy speciális enzim, a **telomeráz** segítségével történik, mely ismétlődő szakaszokat – általában konzervatív 7 bázispárnyi (CCTAAA) egységek ismétlődéséből álló szekvenciákat – szintetizál a DNS-molekulák végére. A telomerázok több katalitikus és szabályozó alegységből felépülő, ugyanakkor fejlődési fázisoktól és környezeti tényezőktől függően szabályozott aktivitású, RNS-tartalmú enzimek. A telomerázok a saját RNS-üket használják templátként az ismétlődő szekvenciák szintéziséhez. A létrehozott láncvégi ismétlődések a DNS-molekula információtartalmának megőrzését szolgálják. A DNS megkettőződése során ugyanis a replikáció mechanizmusából következően (ld. 7. fejezet) a láncvégek rövidülnek, mely folyamat az ismétlődő replikációs ciklusok során genetikai információvesztéshez vezetne a telomeráz által létrehozott hosszú, több ezer nukleotidos ismétlődő szekvenciák hiányában. A különböző növényi szövetekben, szervekben eltérő hosszúságú telomer régiók találhatók. Ezek a telomeráz egyedfejlődéstől függő, génexpresszió- és fehérjeszinten egyaránt szabályozott aktivitásának, valamint a régió strukturális elrendeződését szabályozó, a hosszabbítást lehetővé tévő, vagy megakadályozó (pl. az ún. T-hurok képződés a DNS lánc végén) fehérjefaktorok együttes hatásának köszönhetők.

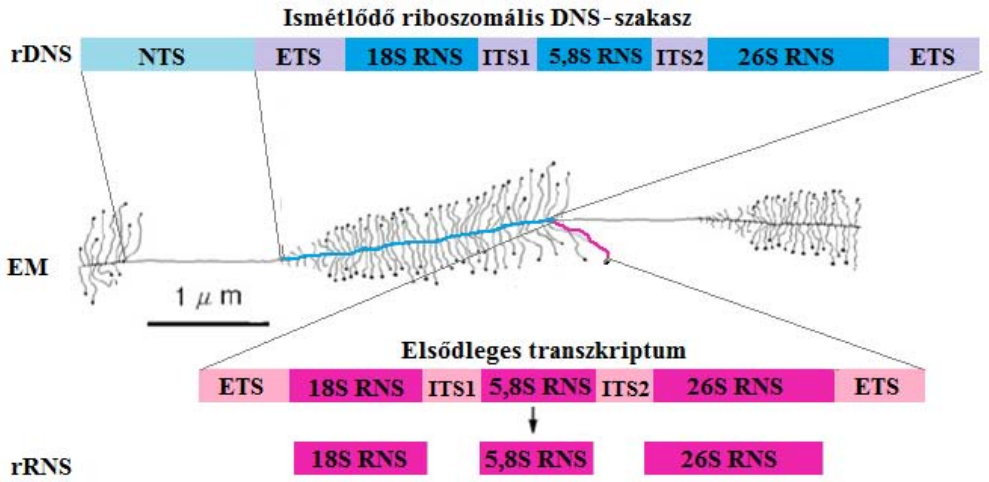
rDNS

A tandem ismétlődő DNS szekvenciák nagyon jelentős hányadát **rDNS-szakaszok**, vagyis riboszómális RNS-eket kódoló DNS-szekvenciák teszik ki. Az rDNS régiók annyiban hasonlítanak az eddig ismertetett tandem ismétlődő szekvenciákhoz, hogy nagy, több tízezres, vagy akár ennél is nagyobb kópiaszámban egymást követően ismétlődő szekvenciákból állnak, a kromoszómák méretéhez képest is jelentős hosszúságú kromoszóma szakaszt alkotva. Az ismétlődő rDNS egység egy nem transzkriptálódó intergénikus régióból (NTS), valamint egy a riboszomális RNS-eket kódoló transzkriptálódó régióból áll (1.7. ábra).

Jelentősen különbözik tehát a szatellit szekvenciáktól abban, hogy géneket kódol, és nagymértékben átíródik. A transzkriptálódó szakasz egyetlen transzkripciós egységben tartalmazza a 18S, az 5,8S, valamint a 26S rRNS-ek

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

génjeit. Ezeket belső elválasztó szakaszok különítik el egymástól (ITS1, ITS2), végeiken pedig ugyancsak a transzkripciós egység részét képező határoló szekvenciák találhatók (ETS). Az igen nagy kópiaszámban szintetizálódó elsődleges transzkriptumok, az érés során ebből kihasadó rRNS-ek, valamint végleges méretük és módosítottságuk kialakításáért és riboszomális alegységekké történő összeszerelésükért felelős fehérjék és RNS-ek, továbbá a transzportjukhoz szükséges fehérjék nagyszámú jelenléte a sejtmagon belül morfológiailag is elkülöníthető régió, a sejtmagvacska (nukleolusz) kialakulását eredményezi (1.7. ábra). Az 5S rRNS génjei - ugyancsak tandem ismétlődő egységekként – elkülönült kromoszóma régióban találhatók.



1.7. ábra Az rDNS tandem ismétlődő régió szerveződése, az átíródó elsődleges transzkriptum valamint az érett rRNS-ek keletkezése (NTS: nem transzkriptálódó szakasz, ETS: külső transzkriptálódó szakasz, ITS1, ITS2: belső transzkriptálódó szakaszok, EM: tipikus elektronmikroszkópos kép a transzkriptálódó rDNS szakaszról)

1.2.3.1.2. A szétszórtan ismétlődő szekvenciák szerkezete és funkciója

Gének, géncsaládok

Az egyre nagyobb számban rendelkezésre álló teljes genomszekvencia ismeretében, valamint a szekvenciák annotációjának következtében nyilvánvalóvá vált, hogy a növényi genomok viszonylag kis hányadát kitevő fehérjéket vagy (a riboszomális RNS-eken túlmenően) az igen változatos méretű és funkciójú egyéb RNS-féleségeket kódoló gének ritkán vannak jelen egyetlen kópiában a genomban. Különösen a nagy mennyiségben egyszerre szükséges fehérjék génjei (pl. hisztonok, riboszomális fehérjék, tartalékfehérjék), vagy az ugyancsak nagy mennyiségben szükséges egyéb RNS-ek, pl. a tRNS-ek génjei több tíz, vagy akár több száz kópiában, szétszórt ismétlődésekként találhatók meg a genom különböző helyein, gyakran másik kromoszómán. Az egyes kópiák, melyek esetenként egymást követő blokkokat is alkothatnak - nem teljesen pontos ismétlődések. A változások módosíthatják a funkciót, előidézhetik a funkció megváltozását, vagy bekövetkezhetnek jelentősebb szekvencia veszteségek is amelyek eredményeként funkciójukat elvesztett pszeudogének keletkeznek a genomban. A funkcionális géneket, vagy pszeudogéneket kódoló szétszórtan ismétlődő szekvenciák a kromoszómák gyakran transzkriptálódó, eukromatikus régióiban találhatók.

Transzpozábilis elemek

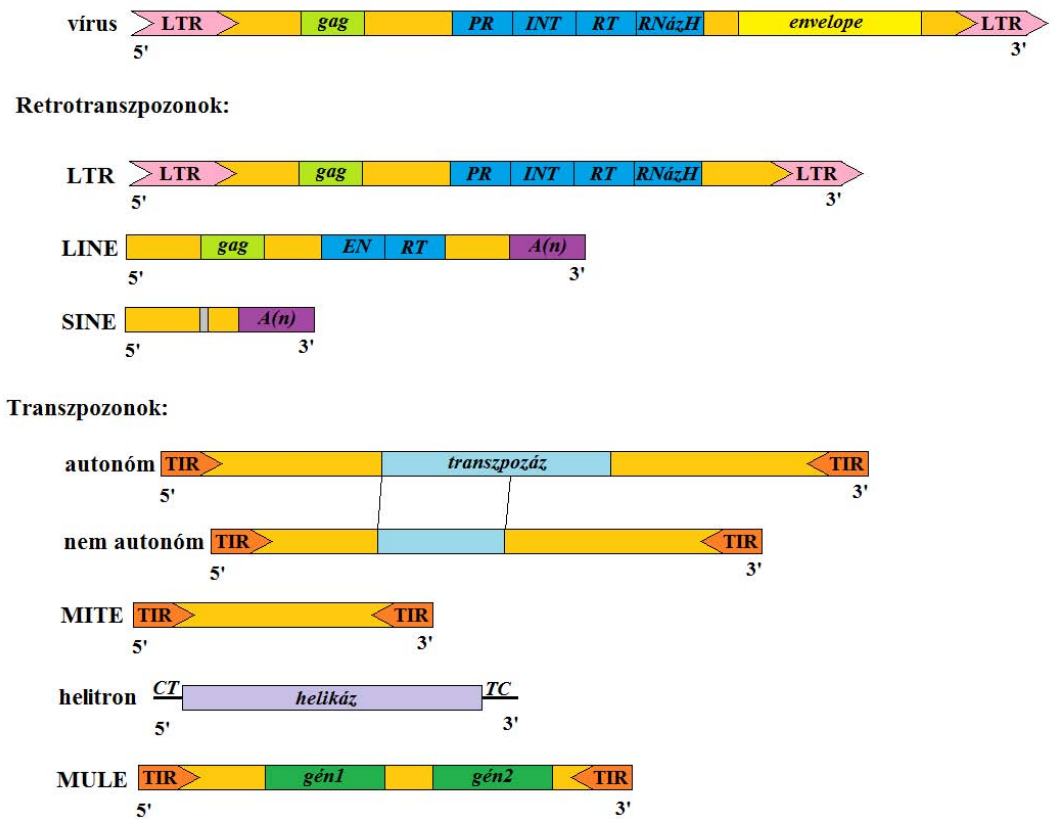
A növényi genomokban nagy arányban (pl. kukoricában mintegy 85 %-ban) találhatók olyan szekvenciák, melyek elmozdulásra képesek. (Összehasonlításképpen a *Drosophila* genomban 20%, míg a humán genomban mintegy 50 % a mobilis genetikai elemek aránya). Az **elmozdulásra képes DNS szakaszokat mobilis genetikai elemeknek, transzpozonoknak**, vagy ugráló géneknek is **nevezik**. Ezek a DNS-szakaszok, bár kódolhatnak géneket, ritkán íródnak át, a kromoszómák heterokromatikus régióiban találhatók. Elmozdulásuk azonban jelentősen befolyásolhatja a genom méretét, szerkezetét vagy akár a beépülés által érintett DNS-szakasz funkcióját.

Az elmozdulásra képes kromoszómaszakaszokat a múlt század közepén fedezte fel Barbara McClintock gyorsan revertálódó mutációk, pl. a kukorica aleuron réteg pigmentáltság-változásait nyomon követő citogenetikai vizsgálatai során. Megállapította, hogy a pigmentáltság megváltozása kromoszómatörésekkel, átrendeződésekkel kapcsolatos. Megfigyelte, hogy a gyakran elmozduló kromoszómaszakaszok a bíbor színt adó antociánok szintéziséért felelős

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

lokuszba beépülve a szín elvesztését, majd onnan ismét kivágódva a pigmentáltság helyreállását okozzák. Megállapította, hogy vannak önálló elmozdulásra képes elemek, ilyen volt a maghéj színének megváltozását okozó aktivátor (Ac) elem. Az aktivátort azért nevezte el így, mert kromoszómatörést aktivált egy disszociátornak (Ds) nevezett elem áthelyeződését okozva. A Ds elmozdulása csak az Ac jelenlétében következett be. Ezeket a szakaszokat szabályozó „controlling" elemeknek nevezte, mivel befolyásolták a gének működését. Barbara McClintock eredményeit felfedezésük idején nem ismerték el. Megállapításainak jelentőségét csak a 70-es években a bakteriális transzpozonok, majd ezt követően az általa vizsgált mobilis elemek transzpozonokhoz való hasonlóságainak megismerését követően értékelték; 1983-ban kapott Nobel-díjat.

Az elmozdulásra képes genetikai elemek gyakoriságáról, sokféleségéről, szerkezeti sajátságaikról, elmozdulásuk módjának, és az elmozdulás hatásainak rövid távú és evolúciós jelentőségéről egyre több ismeret áll rendelkezésünkre az utóbbi időben. Ezek alapján a mobilis genetikai elemeket többféle módon csoportosíthatjuk. Lehet az osztályozás alapja az önálló elmozdulásra való képesség (autonóm, nem autonóm mobilis elem), vagy az elmozdulás módja. A Barbara McClintock által tanulmányozott ún. **DNS transzpozonok**on kívül, melyeknek az **elmozdulása az adott DNS-szakasz kivágódását, majd egy új helyre beépítését jelenti**, igen nagy számban találhatók a genomokban olyan elemek, melyeknek az elmozdulása nem az elem „cut and paste" kivágódását és áthelyeződését jelenti, hanem **RNS intermedier** közvetítésével és **reverz transzkriptáz** közreműködésével az adott **DNS- szakasz másolata épül be a genomba kétfonalas DNS-kópiaként**. Ezeket a transzpozonokat **retroelemeknek, vagy retrotranszpozonoknak** nevezzük. Az elmozdulás mechanizmusa alapján történő osztályozás szerint a retroelemek képviselik a transzpozonok I. osztályát, míg a DNS transzpozonok a II. osztályba tartoznak. A mobilis genetikai elemek tárgyalásánál az elmozdulás módja szerinti osztályozást követjük (1.8. ábra).



1.8. ábra A transzpozábilis elemek típusai. LTR: hosszú láncvégi ismétlődést tartalmazó retrotranszpozonok, LINE: hosszú szétszórtan ismétlődő szekvenciák, SINE: rövid szétszórtan ismétlődő szekvenciák, TIR: fordított irányú ismétlődés, MITE: miniatűr ismétlődő elemek, MULE: mutátor, génfragmentumokat tartalmazó ismétlődő szekvenciák.

I. osztály: Retrotranszpozonok/Retroelemek

A transzpozonok I. osztályába tartozó mobilis genetikai elemeket „copy and paste" transzpozonoknak is nevezik, mivel az elmozdulásuk mindig replikatív, az adott DNS-szakasz megduplázódását, vagy inkább sokszoros

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

kópiaszámnövekedést jelent. A legtöbb növény retrotranszpozon családok százait tartalmazza. A nagyon nagy genommal rendelkező növényeknél megfigyelhető, hogy az retrotranszpozonok bizonyos családjai óriási kópiaszámot képviselnek, a genom és egyben a mobilis genetikai elemek jelentős hányadát alkotva és hozzájárulva a genom méret növekedéshez.

A retrotranszpozonokat felépítésük - és az ebből következő elmozdulási mechanizmusuk - alapján további alosztályokra különíthetjük el.

Az **I. alosztály**t a hosszú láncvégi ismétlődéseket (Long Terminal Repeat) tartalmazó, ún. **LTR retrotranszpozonok** alkotják, melyek retrovírus eredetűek és szerkezeti sajátságaikban is nagyon hasonlítanak a retrovírusokra (1.8. ábra). A több ezer nukleotid hosszúságú láncvégi ismétlődéseik tartalmazzák a retrotranszpozonról történő RNS-szintézis iniciációjáért és terminációjáért felelős szabályozó szekvenciákat. Az ismétlődések olyan géneket fognak közre, melyek lehetővé teszik a retrotranszpozonról szintetizáló teljes RNS-transzkriptum DNS-sé történő átírását. Ezt követi a komlementer DNS-szál szintézise, majd a keletkezett kétfonalas DNS, az LTR retrotranszpozon másolata, beépül a genom más régiójába. Tehát az LTR retrotranszpozon génkészletének a saját kópia replikatív alapon történő mozgásához tartalmaznia kell reverz transzkriptázt, a retrotranszpozon RNS-éről elsőként szintetizálódó RNS-DNS hibrid RNS-szálát elbontó RNáz H ribonukleázt, valamint a genom más helyére történő beépülést segítő integrázt. Tartalmaznak ezen kívül az említett enzimek aktív formájának kialakulását elősegítő proteázt, valamint a retrovírusokra jellemző kapszid-szerű fehérjét is, amely az LTR retrotranszpozonról szintetizálódó teljes transzkriptum védelmét szolgálja. A hosszú láncvégi ismétlődéseket tartalmazó retrotranszpozonokban az ismertetett gének sorrendjének különbségei további csoportosításokra (gypsy és copia szupercsaládok) adnak lehetőséget. A komplett LTR retrotranszpozonok tehát szerkezetüket tekintve mindössze annyiban különböznek a retrovírusoktól, hogy nincs köpenyfehérjegénjük, vagyis hiányzik belőlük az a gén, ami a retrovírusok becsomagolását, sejtből való kijutását és önálló vírusként való létezését lehetővé teszi (1.8. ábra).

A retrotranszpozonok növényi genom evolúciósan ősi alkotórészei. Bár jelenleg nem ismerünk retrovírus növénykártevőket, a növényi genomokban jelentős az LTR retrotranszpozonok aránya. Kukoricában és gyapotban a mozgékony genetikai elemek több mint 90%-át képezik. Több növényben találtak olyan LTR retrotranszpozonokat, melyek a köpenyfehérjegén-töredék szekvenciát is tartalmaztak.

A retrotranszpozonok **II. alosztály**ába az LTR szekvenciát nem tartalmazó, ám nagyon változatos transzpozábilis elemek tartoznak. Méretük és szekvencia sajátságaik alapján ugyancsak két csoportra, a **hosszú (LINE** = Long Interspesed Nuclear Element) és a **rövid (SINE** = Short Interspersed Nuclear Element) **szétszórtan ismétlődő elemekre** különíthetők el. A LINE elemek annyiban hasonlítanak az LTR retrotranszpozonokra, hogy géneket kódolnak; nevezetesen az elmozdulásukhoz szükséges reverz transzkriptázt és endonukleázt. A végeiken azonban szabályozó szekvenciák, illetve oligo-A szakaszok találhatók. Szekvenciájukat tekintve nem a retrovírusokra, inkább a II típusú önkihasító intronokra hasonlítanak és evolúciósan valószínűleg azokból is származtathatók.

Az elmozdulásuk a saját reverz transzkiptázuk és endonukleázuk segítségével történik, ún. célszekvencia-irányított reverz transzkripciós mechanizmussal (target primed reverse transcription). Elsőként az endonukleáz elhasítja a célszekvencia egyik DNS-szálát. Ez lehetővé teszi egy rövid szakaszon egyfonalas DNS kialakulását, melyhez komplemetaritás alapján kötődik a LINE elemről szintetizálódott RNS 3' vége. A DNS-t kezdődarabként felhasználva a reverz transzkriptáz az RNS-ről DNS-t szintetizál, ami kettős szálú DNS-sé egészül ki, így a LINE elem másolata egy új helyen is megjelenik a genomban.

A SINE elemek nem tartalmaznak az áthelyeződésükért felelős géneket, ezért retropozonoknak is nevezik őket. Szekvenciájuk azonban más transzpozábilis elemekkel, vagy pl. tRNS-ekkel mutat hasonlóságot. Áthelyeződésük a LINE elemek enzimeinek, illetve egyéb reverz transzkriptázoknak a segítségével történik. A genomban való fennmaradásuk, sokszorozódásuk, vagy eltűnésük tehát attól függ, milyen sikeresen tudják használni az áthelyeződésükhöz, „életciklusukhoz" az egyéb elemek reverz transzkriptázait, integrázait.

II. osztály: Transzpozonok

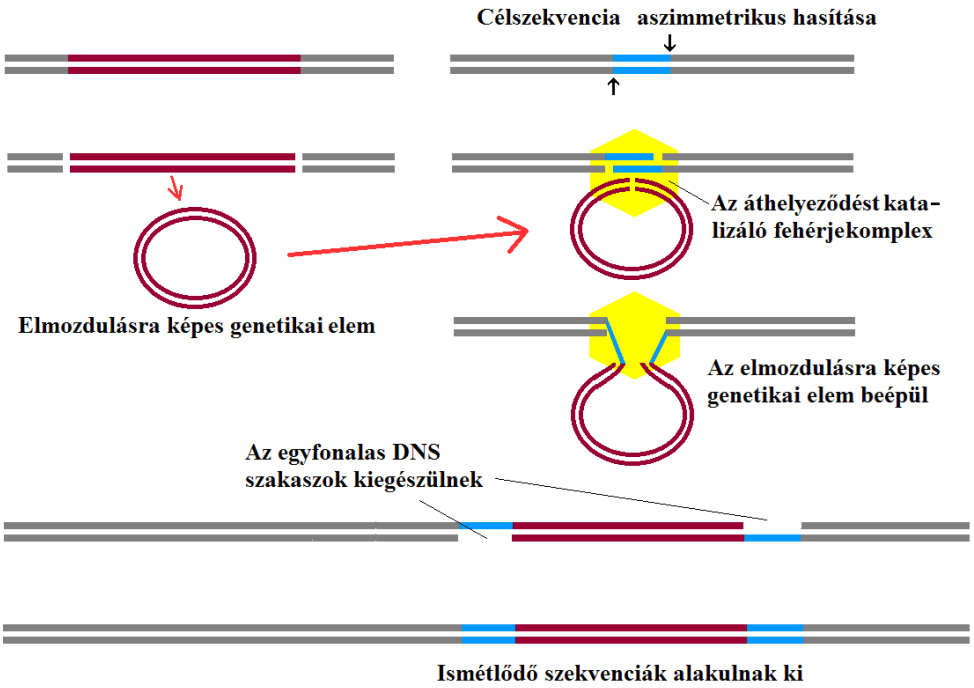
A DNS-szakaszok áthelyeződése révén elmozduló transzpozábilis elemek, vagy DNS transzpozonok a genomoknak általában kisebb részét alkotják, mint az RNS intermedier közvetítésével, replikatív úton elmozduló retroelemek, bár néhány típusuk kivételesen nagy arányban is jelen lehet. Korai felfedezésüket követően csak évtizedek múlva, a genomszekvenciák mind kiterjedt analízisének köszönhetően váltak ismertté azon struktúrális sajátságaik, melyek magyarázatot adnak a citogenetikai vizsgálatok alapján elkülönített autonóm transzpozonok és az önálló elmozdulásra nem képes, nem autonóm elemek áthelyeződésének mechanizmusára. Az elmúlt évtized kutatásainak eredményeként

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

a transzpozonok osztálya kiegészült további csoportokkal. A géneket nem tartalmazó ún. MITE elmek (Miniature Inverted repeat Trasposable Elements) jelentős részarányt képviselő alkotói több növényi genomnak. Az áthelyeződéshez szükséges géneket nem, idegen gének darabjait viszont tartalmazó mutátor elemek evolúcionárisan (MULE), míg a rolling circle mechanizmussal áthelyeződő helitronok az elmozdulásuk szempontjából különlegesek.

A klasszikus **„cut and paste"transzpozonok** olyan DNS-szakaszok, melyek kódolják az elmozdításukhoz szükséges komplex enzim, a transzpozáz génjét, végükön pedig nem kódoló, fordítottan ismétlődő szekvenciákat tartalmaznak. Az áthelyeződés során a transzpozáz felismeri az elem végén található, többnyire 10-30 bp hosszúságú fordított ismétlődést, majd mindkét DNS-szálat elvágja. A kihasított kétfonalas DNS az enzimkomplexhez kötődve helyeződik át a célszekvenciához, ami gyakran egy közeli gén, vagy annak szabályozó régiója. A transzpozáz aszimmetrikusan hasítja a cél-DNS két szálát, ami azt eredményezi, hogy ez elem betoldódása után a célszekvencián néhány nukleotidos duplikációk keletkeznek, amelyek megmaradnak az elem pontos kivágódása után is (1.9. ábra).

Tehát a DNS transzpozon beépülése is és a kivágódása is mutációt okozhat. Ugyanakkor bekövetkezhetnek pontatlan kivágódások is, amelyek tovább növelik a genom változatosságát. A **nem autonóm transzpozábilis elemek** a transzpozáz géneknek csak fragmentumait tartalmazzák, ám az azonos végű autonóm elemek transzpozázai áthelyezik őket, felismerve határoló szakaszaikat.



1.9. ábra A „cut and paste" DNS transzpozonok elmozdulásának mechanizmusa

A **MITE** elemek olyan **nem autonóm transzpozonok**, melyek szintén tartalmaznak fordított ismétlődéseket a végeiken. Ezeket a 100-500 nukleotid hosszúságú transzpozábilis elemeket növényeknél fedezték fel elsőként és elsősorban a rizs genom vizsgálata során nyertek ismereteket különleges tulajdonságaikról. Egyes családjaik (*Tourist*), hasonlóságot mutatnak autonóm transzpozonokkal, melyek alapján az áthelyeződésük magyarázható, ugyanakkor sokezres kópiában jelen levő más családjaik (*Stowaway*) csak igen távoli rokonságban vannak autonóm elemekkel. Nagy kópiaszámú jelenlétüket a rizs genomban azzal magyarázzák, hogy a hasonlóságok elegendők ahhoz, hogy más elemek transzpozázai felismerjék és áthelyezzék őket. Ugyanakkor hiányoznak belőlük az áthelyeződést represszáló szekvenciák. Mindezek lehetséges következménye, hogy evolúcisan hosszú távon jelentősen nőtt az arányuk a genomokban.

A **mutátor elemek (MULE**; mutator-like element) a legtöbb eukarióta genomban előforduló, de különösen a magasabbrendű növényekben nagy kópiaszámban és változatosságban megtalálható transzpozábilis elemek. Olyan **DNS-szakaszokat tartalmaznak**, melyek a genomban meglévő **gének** különböző **darabjaiból** állnak össze, vagyis azok kimérái. A rizsben található mintegy 3000 MULE elem összességében több mint 100 funkcionális gén fragmentumait tartalmazza. Általában 4-6 génszakasz fordul elő egy-egy elemben. A MULE transzpozábilis elemek

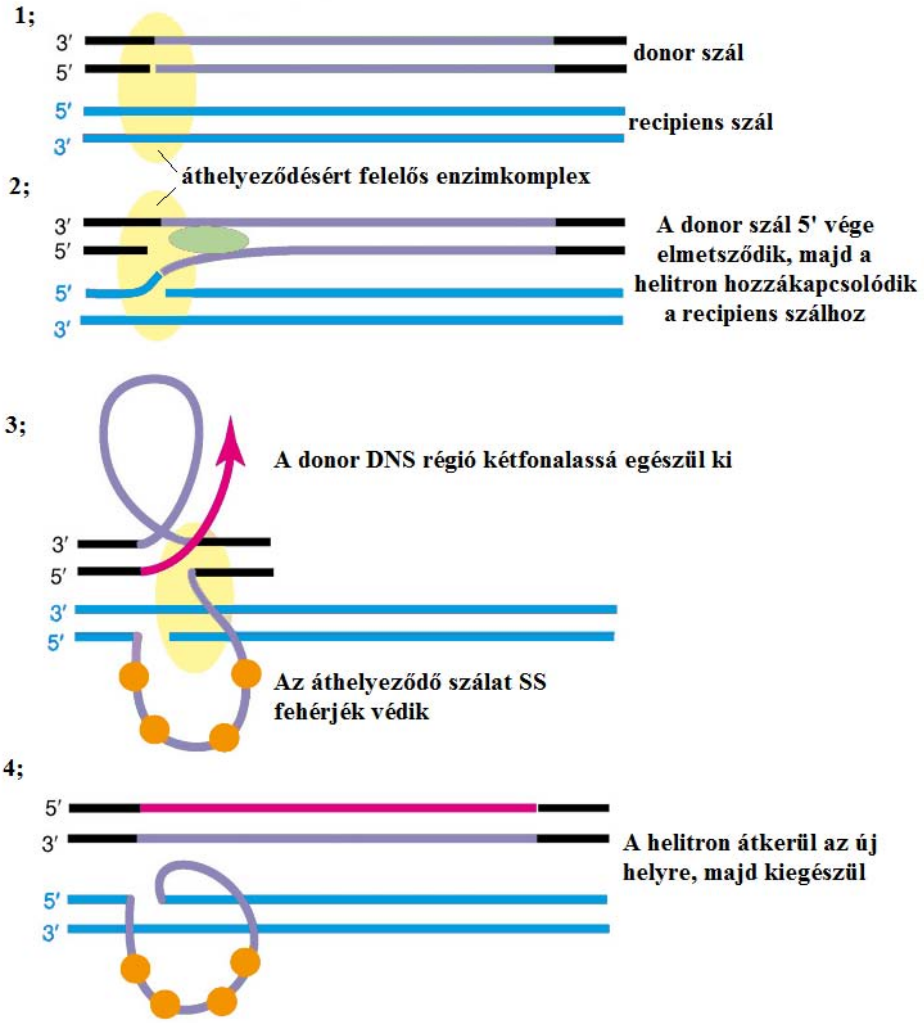
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

egyes génjei lehetnek funkcionálisak, vagy új kombinációkat alkotva, átrendeződve, megsokszorozódva a bennük lévő fragmentumokból új gének alakulhatnak ki. Elterjedtségüket figyelembe véve nagy jelentőségüket tételezhetjük fel a növényi genom evolúciójában.

A **helitronok**at, vagy **rolling circle** mechanizmussal áthelyeződő **transzpozonok**at 2001-ben *in silico* fedezték fel, a *Caenorhabditis*, *Arabidopsis* és a rizs ismétlődő szekvenciáinak analízise során. Olyan struktúrákat találtak, melyek a prokarióta rolling circle mechanizmussal áthelyeződő transzpozonokra jellemző géneket tartalmaztak. Köztük DNS helikázt és a replikáció iniciációjához szükséges fehérjedomént, továbbá egyéb fehérjéket, pl. ligázt, endonukleázt. Nem tartalmaztak viszont a DNS transzpozonokra jellemző fordított ismétlődéseket az elem végén, ehelyett a 5'CT és 3' TC(RR = A vagy G) végeket találtak, a 3' vég közelében egy 16-20 bázispárt tartalmazó hajtű struktúra kialakítására alkalmas palindrom szekvenciával. Jelenlétüket mára szinte valamennyi rendszertani kategóriában kimutatták, jellemzően 1-5 %-os arányban. Kódolhatnak az említetteken kívül más géneket is, például növényi helitronok jellemzően egyfonalas DNS-t kötő, vagy a replikáció iniciációjához szükséges fehérjéket.

A megfelelő génkészlettel rendelkező helitronok un. szemi-replikatív transzpozícióval helyeződnek át. Ennek során az egyik DNS-szál áthelyeződve a genom egy másik helyére, és templátként szolgálva kettős szálú DNS-sé egészül ki a DNS-javító mechanizmusok segítségével. Áthelyeződéskor nem idéznek elő a célszekvencián duplikációt a beépülés helyén. Az áthelyeződés lépései a következők: Az áthelyeződésért felelős enzimkomplex hozzákötődve a helitron kétfonalas DNS-éhez az egyik szálat elmetszi az elem 5' végén, majd a recipiens szálon is hasítást ejtve annak 3' végéhez hozzákapcsolja az elem szabad 5' végét. A donor DNS-régió helyben maradt, egyfonalassá vált szakasza kétfonalassá egészül ki a reparációs fehérjék segítségével, miközben az áthelyeződő szálat SS (egyfonalas szálhoz kötődő) fehérjék védik hurkot képezve. A helyben maradó szál kettős fonallá történt kiegészítésének befejezéseként az elkészült komplementer fonal 3' vége bekötődik az áthelyezendő szál 3' végének helyére, így az az eredeti szálból teljesen kihasadva átkerül az új helyrére, ahol hozzákötődve a cél DNS-en ejtett bemetszés 5' végéhez kétfonalassá egészül ki (1.10. ábra). A helitronok elmozdulása során a határoló DNS-szakaszokból is helyeződhetnek át géndarabok, növelve ezzel a genom változatosságát. Növényeknél különösen a kukorica genomban nagy a géntöredékeket tartalmazó helitronok száma, több mint 1000, de funkcionális gént eddig nem találtak köztük. Ugyanakkor a jelenség evolúciósan nagyon jelentős lehet.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

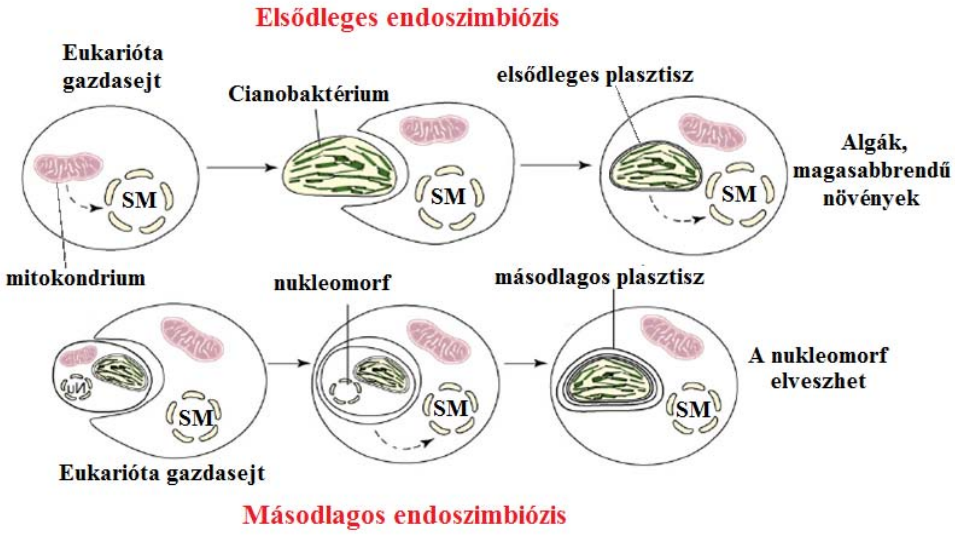


1.10. ábra A helitronok áthelyeződésének mechanizmusa (SS fehérje: egyfonalas DNS-hez kötődő fehérje) (Kapitonov és Jurka, 2007 alapján)

1.3. Az organelláris genomok szerveződése

A növényi sejtek genetikai információtartalmának egy részét az evolúció során endoszimbiontaként bejutott, autonómiájukat – önálló osztódóképességüket, anyagcseréjüket - részben megtartott organellumok, a plasztiszok és a mitokondriumok hordozzák. A mitokondriumok aerob α-proteobaktériumokból származtathatók, melyek bejutva a prokarióta sejtbe organellummá alakultak, biztosítva a gazdasejt aerob metabolizmusát és evolúciósan lehetőséget teremtve az eukarióta állati sejtek kialakulásához. A növényi sejtek ősei mitokondriumot tartalmazó eukarióta sejtek, melyek prokarióta cianobaktérium bekebelezésével és endoszimbiontából organellummá, vagyis kloroplasztisszá válásával keletkeztek, kialakítva az immár két autonóm organellumot tartalmazó, fotoszintézisre képes sejteket. A mitokondriumok és kloroplasztiszok eredetét genomjaik prokarióta rokonaikkal, az α-proteobaktériumokkal, illetve a cianobaktériumokkal való hasonlósága is alátámasztja. A magasabbrendű növények és a zöldalgák kloroplasztiszainak kialakulása egyszeri endoszimbiózis eredménye. Más rendszertani kategóriákban a plasztiszok gyakran kétszeres, esetenként többszörös endoszinmbiózis következményeként jöttek létre, vagyis az eredetileg kloroplasztisszal, mitokondriummal és sejtmaggal rendelkező sejtet ismét bekebelezte egy eukarióta sejt. Ennek eredményeként több membránnal határolt, néha még a másodlagos endoszimbionta sejtmagjának maradványait (nukleomorf) is tartalmazó plasztiszok is megfigyelhetők a különböző, főként alacsonyabbrendű növényekben. (1.11. ábra)

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



1.11. ábra Plasztiszok kialakulása elsődleges és másodlagos endoszimbiózissal (Archibald és Lane 2009 alapján)

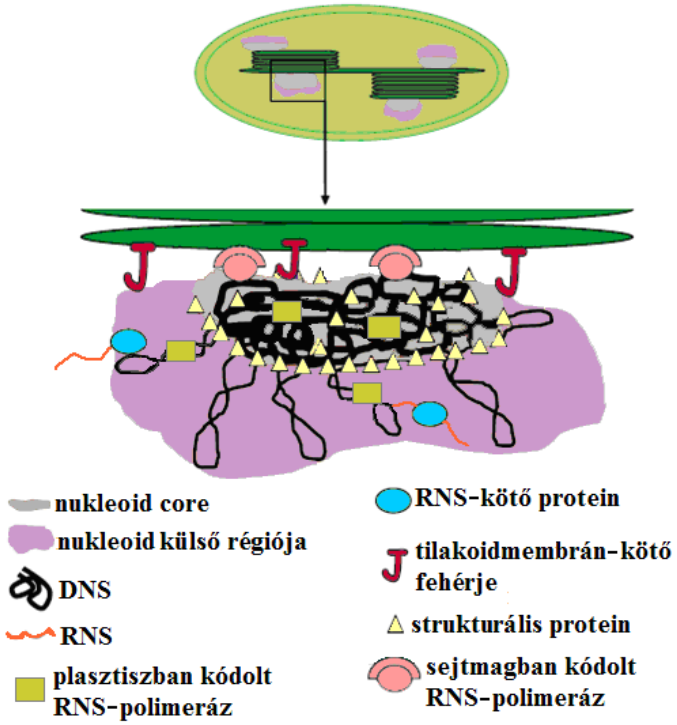
1.3.1. A plasztiszgenom szerveződése

A plasztiszok genomjai – különösen magasabbrendű növényekben – viszonylag szűk mérettartományt képviselnek, általában 120-160 kbp hosszúságúak. A legnagyobb jelenleg ismert plasztiszgenom, az egysejtű *Acetabularia* alga plasztiszának genomja is csak mintegy 400 kbp. Általában egyszeres méretű kétfonalas cirkuláris DNS formájában találhatók a plasztiszban, de előfordulhatnak más elrendeződésekben is. Kimutattak teljes genomméretű lineáris molekulákat, vagy ezekből összeálló elágazó struktúrákat, melyek faágszerűen is kapcsolódhatnak egymáshoz. Esetenként többszörös genomméretű, cirkuláris replikációs intermediereket is meg lehet figyelni a plasztisz genomok replikációja során.

A genomméret szempontjából tehát a plasztisz genom csak mintegy 0,1- 0,001%-át teszi ki a sejtmagi genomnak, a sejtben lévő összes DNS-tartalomnak azonban 5-10 %-át is adhatja. Ez annak köszönhető, hogy egy-egy plasztiszban, különösen fiatal levelekben, akár száz kópiában is jelen lehet a teljes genomi méretű DNS, de idősebb sejtekben is több, mintegy 20 kópia jelen van. Mindemellett egy-egy sejtben több plasztisz is található, általában 10-50 db, ami ugyancsak megnöveli a plasztisz-DNS mennyiséget a sejtben.

A több kópiában jelen levő plasztisz genomi DNS-molekulák fehérjékkel komplexeket alkotva, külön-külön szerveződési és funkcionális egységeket, **nukleoidokat** képezve a tilakoid membránokhoz kapcsolódnak. A nukleoidok egy kompaktabb belső (core) és egy lazább külső régióval rendelkeznek. A kompaktabb régió is hozzáférhető azonban a replikációért, transzkripcióért felelős, plasztiszban kódolt, vagy sejtmagból származó enzimek számára. A *core* régióban főként DNS és fehérjék, míg a külső régióban RNS-transzkriptumok, továbbá egyéb, a szintetizálódott RNS-ek további funkciójának – pl. transzlációjának - megvalósításához szükséges fehérjék is találhatók, melyek együttesen alakítják ki a nukleoid komplex szerveződését és működését (1.12. ábra).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



1.12. ábra A plasztisz genetikai állományának lokalizációja és struktúrális szerveződése (Krupinska és mtsai 2013 alapján).

Egy növény morfológiailag különböző szerveiben, vagy szöveteiben található eltérő típusú plasztiszok (pl. kloroplasztiszok, kromoplasztiszok, leukoplasztiszok) genetikai állománya azonos. Megjelenésbeli különbségeik eltérő génexpressziójuk következtében megvalósuló eltérő működésük megnyilvánulásai.

A magasabbrendű növényekben és zöldalgákban elsődleges endoszimbiózis eredményeként kialakult plasztiszgenomok méretük, géntartalmuk és strukturális felépítésük tekintetében is jelentős hasonlóságokat mutatnak. A teljes genomot tartalmazó cirkuláris kétfonalas DNS-molekulák jellemzője egy **fordítottan ismétlődő régió,** az **IR_A és IR_B** (Inverted Repeat A és B), melynek génjeit - az ismértlődés következtében - a plasztisz genom két kópiában tartalmazza. Ez az ismétlődés néhány alga, fenyő, vagy pillangós faj kivételével általános sajátsága a plasztisz genomoknak. Az IR_A és IR_B szakaszok egy kópiában előforduló géneket tartalmazó szakaszokkal vannak elválasztva egymástól. Az **egy kópiában meglévő génekt**et tartalmazó régiók többnyire nem egyforma méretűek, egy **kisebb**, az **SSC** (Small Single Copy) és egy **nagyobb,** az **LSC** (Large Single Copy) régió figyelhető meg a plasztiszok kétfonalas cirkuláris DNS-én (1.13. ábra). Ez az elrendeződés jellemző a plasztiszok közös cianobakteriális ősének genomszerveződésére. Az IR régiót nem tartalmazó néhány fajban a szakaszok elvesztése az evolúció során következett be.

Bár az ismétlődő régiók hosszában lehetnek jelentős különbségek (0,5 – 76 kb) az ismétlődő régiók azonos géneket tartalmaznak mind a prokariótákban, mind a jelenlegi plasztiszokban; nevezetesen a 16S és 23S riboszomális RNS-ek génjeit, melyek néhány tRNS-gént fognak közre, valamint az 5S és a magasabbrendű növényekre jellemző 4,5S riboszomális RNS-ek génjeit. A plasztisz genomok – noha az eredeti endoszimbiontához képest nagyságrenddel kisebb számú gént tartalmaznak – kevés nem kódoló szekvenciával rendelkeznek.

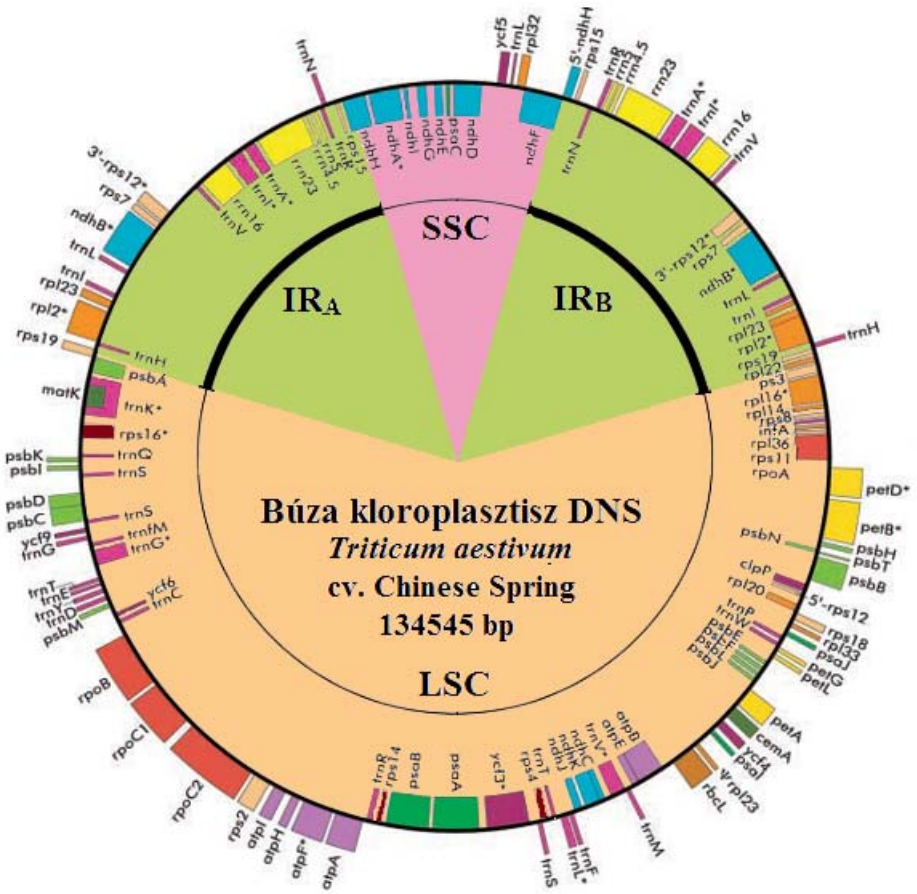
A DNS mindkét szálán nagy sűrűségben találhatók gének, melyek száma 100-200 között változik, tehát a kódoló kapacitás magas. A plasztiszokban kódolt gének alapvetően két csoportba oszthatók. A transzkripcióhoz, transzlációhoz szükséges gének között találjuk a már említett rRNS-géneken kívül a tRNS-ek, riboszomális fehérjék, vagy az RNS-polimerázok génjeit, míg a fotoszintézisért, a fotoszintetikus apparátus felépítéséért és a CO_2-fixációért felelős gének között az elektrontranszportlánc egyes komponenseinek, valamint a Calvin-ciklus enzimeinek génjeit találjuk.

Mintegy 300 plasztisz genom ismeretében elmondható, hogy az organellumban működő prokarióta típusú transzlációhoz szükséges rRNS- és tRNS-készlet jellemzően jelen van a plasztisz genomban. Találhatók továbbá

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

jelentős számban fehérjegének (mintegy 100-150), melyek száma rendszertani kategóriától, vagy a növény életmódjától függően is változhat. Pl. a szekunder, vagy tercier endoszimbiózissal kialakult alga plasztiszok általában nagyobb számban kódolnak fehérjéket, mint a magasabbrendű növények plasztiszai. Alapvetően eltérő szerveződésűek és kevés gént tartalmazók kivételként köztük is előfordulnak, pl. egyes *Dinoflagellata* fajokban a plasztisz génjeinek mindegyike önálló cirkuláris DNS formájában található meg. Szélsőséges életmódbeli sajátságok genomevolúciós vonzataként megnyilvánuló génvesztés magasabbrendű növényeknél is megfigyelhető, pl. a parazita életmódot folytató nem fotoszintetizáló növények a fotoszintézishez szükséges fehérjék génjeinek jelentős részét elveszítették (*Cuscuta, Epiphagus*).

Ugyanakkor a plasztisz teljes autonómiájához szükséges **gének egy része** (pl. a riboszomális fehérjék génjei) csakúgy, mint a fotoszintetikus apparátus fehérjéinek egy része a koevolúció során **átadódott a sejtmagba**. Utóbbiak közül jellemzően a CO_2-megkötésért felelős, az élővilágban legnagyobb mennyiségben előforduló ribulóz 1,5-biszfoszfát-karboxiláz/oxigenáz enzim kis alegységének génje a sejtmagban, míg a nagy alegység génje a plasztiszokban kódolt. Funkcióképes enzim kialakításához a sejtmag és az organellum összehangolt génexpressziója, citoplazmás riboszómákon történő fehérjeszintézis és az elkészült fehérje plasztiszba történő transzportja szükséges. Tehát a sejtmagban kódolt, de a plasztiszban működő fehérjék léte egyben a két genom nagyon finoman összehangolt koevolúciójának is bizonyítéka. Ugyanis az eredetileg prokarióta szabályozó szekvenciákkal rendelkező plasztisz géneknek átadódásukat követően a transzkripciójukat biztosító eukarióta szabályozó szekvenciákra, valamint a szintetizálódott fehérjék plasztiszba szállítását biztosító tranzitpeptidet kódoló (ld. 9. fejezet) szekvenciákra is szert kellett tenniük.



1.13. ábra A plasztiszgenomok jellemző genomszerveződése a búza kloroplasztisz alapján. IR_A IR_B: fordítottan ismétlődő szekvenciák. LSC: hosszabb egykópiás régió), SSC: rövidebb egykópiás régió

Az organellum autonómiája nem teljes; az önálló osztódásra képes plasztiszok létét a magba átadódott gének összehangolt expressziója, citoplazmás riboszómákon történő szintézise és a plasztiszba szállítása biztosítja. Az ősi cianobakteriális genomban eredetileg jelen lévő több mint 3000 gén egy része ugyanakkor a sejtmagba átadódva más funkcióra tett szert, a koevolúció során eliminálódott, vagy a kisebb részük a mitokondriumba adódott át. A

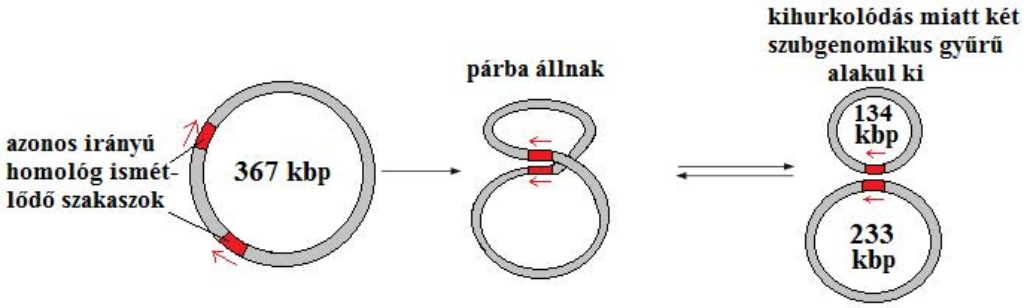
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

nagyon gazdaságosan szerveződő és gyakorlatilag inkább szemiautonómiát, mint teljes autonóm létezést biztosító plasztiszgenomok is tartalmaznak hosszabb-rövidebb nem kódoló szekvenciákat melyekről az utóbbi néhány év kutatásinak eredményeként bizonyítottan képződnek transzkriptumok. A plasztiszok nem kódoló RNS-ei (pncRNS-ek), melyek méretüket tekintve 20-60 nukleotid hosszúságúak és képződhetnek a gének közötti, vagy génekkel részben átfedő, azonos, vagy komplementer DNS szálról, feltehetően egy még részleteiben nem felderített szabályozó rendszer részei. A pncRNS-ek a génexpresszió különböző szintjein, pl. a transzkriptum stabilitása, az elsődleges transzkriptum nukleotid szekvenciájának módosítása (editing) vagy akár a transzláció szintjén is befolyásolhatják a plasztisz működését.

1.3.2. A mitokondriális genom szerveződése

A növényi mitokondriális genomok mind méretüket, mind pedig szerveződésük bonyolultságát tekintve sokkal nagyobb változatosságot mutatnak, mint a plasztisz genomok. Találunk köztük 100-200 kbp hosszúságú, ugyanakkor 2-3000 kbp hosszúságúakat is, gyakran nagyon közeli rendszertani kategóriákon belül. A *Cucurbitaceae* családba tartozó *Citrullus lanatus* pl. 330 kbp, a *Cucurbita pepo* 850 kbp, míg a *Cucumis melo* 2400 kbp hosszúságú genommal rendelkezik. Más élőlényekkel összehasonlítva is jellemzően nagy a növényi mitokondriális genomok mérete. A növények között viszonylag kis genomú *Marchantia* (170 kbp), vagy az *Arabidopsis* (367 kbp) mitokondriális genomok is lényegesen, 10x, ill. 20x nagyobbak az állati szervezetekben található, köztük a humán mitokondriális genomnál.

A mitokondriális genomok szerveződésbeli sokfélesége az adott sejten belüli mitokondriumok DNS-készletének elrendeződésében is megnyilvánul. Bár **jellemzően cirkuláris kétfonalasDNS**-ekként vannak jelen, a **gyűrűk mérete variábilis**, gyakran jelentős méretkülönbségek figyelhetők meg. Ennek oka az, hogy a genomban hosszabb-rövidebb azonos orientációjú, vagy fordítottan ismétlődő szekvenciák találhatók, melyek között rekombináció jöhet létre. Amíg azonban a fordítottan ismétlődő szekvenciák között ez nem eredményez méret-heterogenitást, addig az **azonos irányú ismétlődő szakaszok közötti rekombináció következtében a mitokondriumokban a teljes genomnál** (master circle) **kisebb méretű** (szubgenomikus) **gyűrűk is kialakulhatnak**. Ezek száma és méreteloszlása az ismétlődő szakaszok számától függ. *Arabidopsis*ban pl. két azonos irányú ismétlődés található, melyek közötti rekombiáció a mester gyűrűnél kisebb cirkuláris kétfonalas DNS molekulák kialakulását teszi lehetővé (1.14. ábra). A szubgenomikus gyűrűk, valamint a mester gyűrű együtt is jelen lehetnek a mitokondriumban. Azoknak a növényeknek a mitokondriális genomja, melyek nem tartalmaznak azonos orientációjú ismétlődést (pl. a májmoha, vagy a fehér mustár), a plasztiszokéhoz hasonlóan homogén méreteloszlású cirkuláris kétfonalas DNS-ekből áll. Algáknál azonban (pl. *Chlamydomonas*) lineáris szerveződésű mitokondriális genomokkal is találkozhatunk.



1.14. ábra Az *Arabidopsis* mitokondriális genom szubgenomikus gyűrűinek keletkezése a mester gyűrű azonos irányú ismétlődő szakszainak rekombinációjával (kihurkolódás).

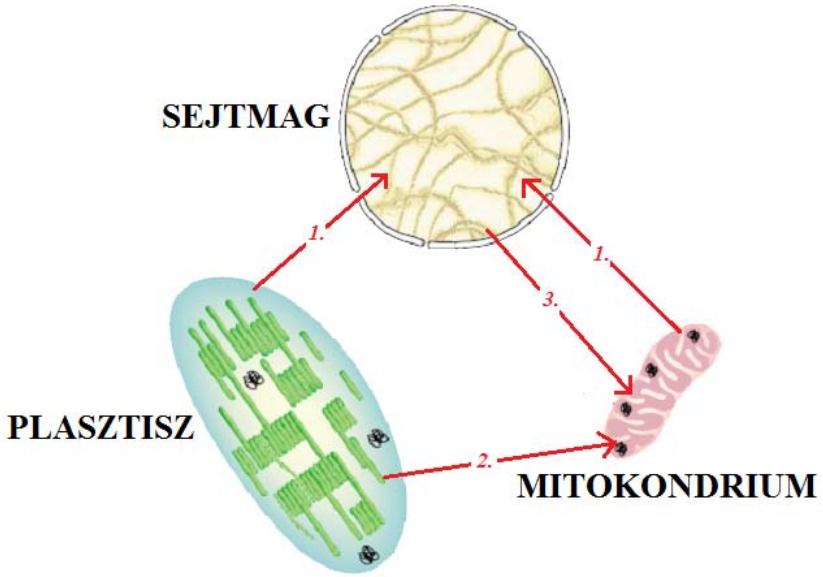
A mitokondriális genomok méret- és szerveződésbeli heterogenitását növelhetik egyes növényeknél a cirkuláris genomtól elkülönülten előforduló 9-12 kbp lineáris plazmidok. Ezeket több magasabbrendű növény mitokondriumából sikerült kimutatni (pl. *Zea mays, Brassica napus, Lolium perenne, Beta vulgaris* ssp. *Maritima, Daucus carota*). A lineáris plazmidok fágokhoz hasonló DNS- és RNS-polimeráz géneket, vagy azok fragmentumait hordozzák. Bár integráz aktivitással nem rendelkeznek, rövid homológ szekvenciáik révén átmenetileg, vagy evolúciósan akár stabilan is integrálódhatnak a genomba. Stabilan beépült lineáris plazmid szakaszokat több növény (*A. thaliana, M. polymorpha, S. cereale, O. sativa, N. tabacum, T. aestivum, L. perenne,* stb.) mitokondriumából is kimutattak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Hasonlóan a plasztiszok DNS-tartalmához, a növények mitokondriális DNS-ének mennyiségi aránya is jóval nagyobb az egyes sejtekben, mint az pusztán a sejtmagi genomhoz viszonyított mérete alapján várható lenne. Az egyes sejtek ugyanis akár 50-1000 mitokondriumot is tartalmazhatnak, melyek mindegyikében mintegy 10-100 DNS-kópia található.

Számos különböző rendszertani kategóriát képviselő alga, alacsonyabbrendű és magasabbrendű növény mitokondriális genomszekvenciájának ismeretében elmondható, hogy bár méret tekintetében jelentősen, a genomjukban kódolt gének számában kevésbé különböznek egymástól. A gének típusait tekintve a plasztiszokhoz hasonlóan megtalálhatók bennük az ún. „housekeeping" funkcióhoz szükséges rRNS-ek, tRNS-ek és fehérjék génjei, vagy azok egy része, továbbá a genom mitokondriumon belüli szerveződéséhez, expressziójához, valamint a mitokondrium sejtlégzésben betöltött funkciójához (légzési elektrontranszportlánc, ATP-szintáz, NADH-dehidrogenáz stb.) szükséges gének egy része is. Ezek a gének többnyire prokariótákhoz hasonló policisztronos szerveződést mutatnak, vagyis egy szabályozó régió több gén kifejeződését befolyásolja, de eukarióta típusú monocisztronos szerveződési egységekben is előfordulhatnak. A **gének száma** azonban, mely a mitokondriális genomok többségében 100 alatt van, még a plasztisz genomok géntartalmához képest is kicsi, tehát **nem arányos a genom méretével**. A funkcionális géneken kívül találhatók a mitokondrium genomban működésre képtelen pszeudogének, melyek a plasztiszokból, vagy a sejtmagból kerültek a mitokondriumba az evolúció során. Hozzájárulnak a méretnövekedéshez több 10-szeres vagy 100-szoros kópiaszámban ismétlődő, 30-500 bp hosszúságú szekvenciák, virális eredetű szekvencia fragmentumok, továbbá sejtmagi transzpozábilis elemekkel homológiákat mutató ismétlődő szakaszok. Minél nagyobb a genom, annál nagyobb arányban tartalmaz olyan régiókat, melyek nem hordoznak génekre vonatkozó információt, hasonlóan a sejtmagi genom mérete és a génjeinek száma közötti kapcsolathoz. Ugyanakkor – a plasztisz genomhoz hasonlóan – a nemkódoló régiókról is jelentős mértékben képződnek transzkriptumok, melyek feltételezhetően a mitokondriumoknál is szerepet játszanak a génexpresszió szabályozásában.

A **növényi mitokondriális genom tehát nagyméretű, sok funkció nélküli ismétlődést, génfragmentumot, sejtmagi, vagy plasztisz eredetű pszeudogént tartalmazó, mozaik szerkezetű genom, mely információtartalma jelentős részét átadta a magba, vagy a koevolúció során elveszítette**. A működéséhez szükséges gének jelentős része a sejtmagban kódolt, melyek géntermékei a citoplazmában szintetizálódott fehérjék formájában szállítódnak az organellumba. Az organellumban lejátszódó prokarióta típusú fehérjeszintézishez azonban a plasztiszban kódolt és onnan importálódó tRNS-ekre is szüksége lehet. A mitokondrium- és plasztiszgenom valamint a sejtmagi genom közötti génátadást mutatja a 1.15. ábra.



1.15. ábra Génátadás az organellumok és a sejtmag között. 1. Plasztiszból és a mitiokondriumból történő génátadaás a sejtmagba. 2. Génátadás a plasztisztból a mitokondriumba. 3. Génátadás a magból a mitokondriumba.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

1.4. A genom megváltoztatása – transzgénikus növények

A növények genomszerveződésének, a sejtmagi és organelláris genomok szekvenciájának, valamint az egyes gének funkciójának és szabályozásának mind teljesebb megismerése egyre inkább lehetővé teszi annak az évezredek óta fennálló igénynek a kielégítését, miszerint a kívánalmaknak jobban megfelelő, a környezeti hatásokhoz jobban alkalmazkodó, magasabb biológiai értékű és terméshozamú, speciális tulajdonságokkal rendelkező növényeket lehessen kialakítani irányítottan, a hagyományos, részben véletlenen alapuló, kevésbé befolyásolható és időigényes nemesítési módszereken túlmenően. A rendelkezésre álló rekombináns DNS-technikák segítségével a kívánt tulajdonságot hordozó gének izolálhatók, *in vitro* felszaporíthatók, szabályozó régiókkal láthatók el, majd a növénybe visszajuttathatók. A géntechnológia segítségével történő genetikai nemesítéssel, genetikai transzformációval létrehozott növényeket transzgénikus, vagy genetikailag módosított (GM) növényeknek nevezzük.

A transzgénikus növények előállításának lehetőségét a géntechnológia fejlődése mellett a múlt század elején kialkított és folyamatosan fejlesztett szövettenyésztési technikák teremtették meg, melyek a növények egyedfejlődésének különleges sajátságait, a plaszticitást és a totipotenciát kihasználva nyújtanak alapot a transzgénikus növények előállításához. A növények egyedfejlődésbeli rugalmasságának köszönhetően a már differenciálódott szövetek sejteitből, vagy akár sejtfallal nem rendelkező protoplasztjaiból *in vitro* körülmények között valamely más szerv, vagy a teljes növény regeneráltatható. Elsősorban a sejtosztódást és differenciálódást befolyásoló növényi hormonok koncentrációjának változtatásával kialakítható ilyen módon hajtás (magas citokinin-auxin arány jelenlétében), vagy gyökér (alacsony citokinin-auxin arány mellett). Ezeket a folyamatokat organogenezisnek nevezzük. Lehetőség van arra is, hogy a differenciált szövet valamely sejtje közvetlenül, egyetlen lépésben embrióvá alakuljon. Ezt a folyamatot nevezzük direkt, vagy közvetlen szomatikus embriogenezisnek. Amennyiben a differenciált szövet (pl. levél mezofillum) sejtjéből előbb kallusz szövet képződik, majd annak valamely sejtje alakul embrióvá és abból teljes növénnyé, indirekt szomatikus embriogenezisről beszélünk.

A sejt- és szövettenyésztési technikák lehetővé teszik haploid gamétákból (mikrospóra, petesejt) egyszeres kromoszómakészlettel rendelkező növények regeneráltatását (androgenezis, ginogenezis), vagy a kromoszómakészlet mesterséges megduplázásával, többszörözésével poliploid növények létrehozását.

A sejfal nélküli protoplasztok, sejtek, differenciálatlan vagy differenciálódott szövetek folyékony közegben, szuszpenziós kultúrákban is fenntarthatók, növelve ezzel a transzformáció lehetőségeit, mely ennek köszönhetően mind protoplaszt szinten, mind pedig a sejt vagy szövet szintjén megvalósítható. A transzformáció célja lehet a sejtmagi genom, vagy az utóbbi időben a lehetőségek kibővülésének köszönhetően a plasztisz genetikai állományának megváltoztatása.

A transzgénikus növények előállításával megvalósuló nemesítés számos előnnyel bír a hagyományos nemesítési eljárásokkal szemben. Ezek közül kimelendők a következők:

- a génátvitel előre megtervezett, irányított, nem véletlenszerű génátadás következménye, mint a klasszikus ivaros szaporítással keresztezhető fajok közötti random genetikai rekombináció. Nem jár a nemkívánatos sajátságok bejutásával, mint a hagyományos keresztezéssel történő nemesítések esetén. Nem igényel utólagos többszörös visszakeresztezést, míg sikerül a kívánt tulajdonság megjelenését elérni

- a bevitt gén származhat olyan donor fajból is, amellyel a recipiens növény nem keresztezhető (de származhat ugyanazon faj valamelyik alfajának/változatának génkészletéből is - a fajon belüli génátvitellel létrehozott GM növényt ciszgénikus növénynek nevezzük)

- a transzgénikus növények olyan génkonstrukciókat tartalmazhatnak, melyeket pontosan megtervezve, esetleg több fehérje génjének kombinációiból állítottak elő, és amelyek ennek következtében új funkciókkal rendelkezhetnek

- a bejuttatott génkonstrukciók olyan szabályozó régiókat tartalmaznak, melyek lehetővé teszik, hogy a bejuttatott gén expressziója szigorúan ellenőrzött körülmények között – pl. csak adott szervben, csak meghatározott fejlődési szakaszban, vagy akár külső környezeti, vagy stressztényezők által szabályozottan – valósuljon meg.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A transzgénikus növények előállításának a mérnöki precizitással tervezett (genetic engineering) irányított nemesítésben megmutatkozó gyakorlati hasznon túl igen nagy jelentősége van a tudományos alapkutatásban is a gének funkciójának, kapcsolati hálózataiknak tanulmányozása és megismerése terén.

1.4.1. Transzgénikus növények előállításának lehetőségei

A kívánt gének, géncsoportok bejuttatása lehetséges közvetlen génbevitellel fizikai, kémiai, vagy mechanikai módszerek alkalmazásával, vagy közvetett módon, a természetben is „genetikai gyarmatosítást" végrehajtó *Agrobacteriumok* génátvivő képességének kihasználásával, továbbá egyéb génközvetítők, pl. vírusok segítségével.

1.4.1.1. Közvetlen génátviteli eljárások

A növények tulajdonságainak megváltoztatása közvetlen génbevitel segítségével a növények különböző fejlődési és morfológiai szerveződési szintjein megvalósítható. Protoplaszt-szinten bejuttathatók egyedi gének, géncsoportok, vagy akár a teljes génkészlettel rendelkező protoplasztok is fúzionáltathatók. A fúzió kis gyakorisággal spontán is végbemegy, de nagy hatékonyságúvá tehető a membránok összetapadását kiváltó, majd az összetapadt régiók folytonosságát megbontó fizikai (elektrofúzió) vagy kémiai módszerekkel. A protoplasztfúziót régóta használják a nemesítési eljárások során, mivel a fúzióval létrejött sejtek ploidiafokának növekedése bizonyos határok között előnyös morfológiai sajátságokkal járhat – pl. nagyobb méret - de használható pl. magnélküli gyümölcsök előállítására is. Ennek során haploid gamétából és diploid vegetetív sejtből fúzióval triploid, ún. gamétaszomatikus hibrideket hoznak létre, melyek ivaros szaporodásra képtelenek a homológ kromoszómák párképzésének hiánya miatt.

A protoplaszt szinten történő módosítás legfőbb hátránya, hogy a teljes növény gyakran nehezen regneráltatható protoplasztból, továbbá minél távolabbi fajok között történik a fúzió, annál nagyobb a genom részletek spontán elvesztésének valószínűsége.

A közvetlen génbevitel sejt, vagy szövet szinten is megvalósítható. Leggyakrabban és jelenleg legnagyobb hatékonysággal használt módszer a génkonstrukciók sejtbe juttatására a biolisztikus eljárás, vagy génbelövés, amely génpuska segítségével történik. Az eljárás során a DNS-molekulákat fémszemcsék (pl. aranyszemcsék) felületére viszik fel, melyeket aztán felgyorsítva belőnek a növényi sejtekbe. A DNS nagy valószínűséggel bekerül a sejtmagba és nagy gyakorisággal beépül a recipiens sejt genomjába.

A transzformáció megtörténte ellenőrizhető, amennyiben a bejuttatott DNS a kívánt tulajdonságokat meghatározó géneken kívül tesztelhető, vagy szelektálható marker géneket is tartalmaz. A tesztelhető markerek termékei a transzformáció bekövetkeztét közvetlenül jelzik (pl.az aminosavainak sorrendje és azok megfelelő egymáshoz viszonyított elrendeződése következtében fluoreszkáló GFP (green fluorescent protein) és származékai segítségével, vagy hisztokémiai reakcióval kimutathatók (pl. glükuronidáz). A szelektálható markergének olyan tulajdonságot hordoznak (pl antibiotikum rezisztencia, herbicid rezisztencia) melyek segítségével a transzformált sejtek, szövetek vagy növények szelektív körülmények között (pl. antibiotikum jelenlétében) elválaszthatók a nem transzformáltaktól. Az új technikák lehetővé teszik a markergének átmeneti felhasználását, majd eltávolítását a kívánt sajátsággal rendelkező transzformánsokból. A szelekció történhet morfológiai, vagy egyedfejlődésbeli sajátságok alapján is.

A biolisztikus eljárást főleg gabonafélék nemesítésére használják sikeresen és elterjedten, ez a leghatékonyabb eljárás a transzgénikus úton töténő nemesítésükre.

Bejuttatható a kívánt sajátságokat hordozó DNS mind protoplasztokba, mind sejtekbe elektroporáció segítségével is, melynek során nagy egyenáramú feszültséggel indukált membránpórusokon keresztül kerül be a kívánt vektor a sejtbe, majd a sejtmagba. Az elektroporációt sikerrel alkalmazták a fő gabonafélék (búza, kukorica, rizs) nemesítésére, kezdetben protoplasztokat, majd később intakt sejteket felhasználva. A genetikai transzformáció mechanikai módszerek alkalmazásával is történhet; bejuttatható DNS a protoplasztokba, vagy sejtekbe akár egyedileg mikroinjektálással, vagy szövetszinten mikro-sérüléseket okozva pl. szilikon-karbid szálak segítségével. Utóbbiak 0,3-0,6 µm átmérőjű, 10-100 µm hosszúságú szálak, melyek áthatolnak a plazmamebránokon utat nyitva ezzel a DNS-ek bejutásának, és növelve a transzformáció gyakoriságát. Ezek az eljásások azonban kevésbé hatékonyak, mint a biolisztikus eljárás.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

1.4.1.2. Közvetett transzformáció

A transzgénikus növények létrehozására a GM növények előállításának kezdetétől felhasználják közvetítőként a növénypatogén *Agrobacterium tumefaciens*t, mely a természetben számos gazdasági szempontból fontos növény kórokozója.

A baktérium természetes génvektorként működik; megváltoztatja a növényi sejt genetikai állományát, vagyis transzformálja a növényt. A fertőzés során ugyanis képes a saját génjeit bejuttatni a gazdaszervezet sejtjeibe, ahol azok beépülnek a genomba és a baktérium számára fontos szén- és nitrogénforrásként szolgáló aminosavszármazékokat termelnek. A baktériumok által transzformált növényi sejtek folyamatosan osztódnak, sejtburjánzásokat, tumorszerű szöveteket kialakítva és ilyen módon biztosítva a baktérium számára a tápanyagellátást.

A baktérium sikerességének – és egyben transzgénikus növények előállítására való használhatóságának – titka, hogy az *Agrobacterium* által a gazdaszervezetbe juttatott gének egy extrakromoszomális cirkuláris kétfonalas plazmidon, az ún. Ti (Tumor indukáló) plazmidon találhatók. A Ti plazmid tartalmazza az átjuttatandó DNS-szakaszt (T-DNS), továbbá ettől elkülönülten a T-DNS átjuttatásáért felelős un. virulencia géneket magában foglaló régiót (Vir régió). A Vir régió génjei által kódolt fehérjék teszik lehetővé a baktérium által megvalósított hatékony transzformációt (1.16. ábra). Ennek során a baktérium érzékeli gazdanövény által kibocsátott szignál molekulákat (VirA szenzor kináz) és egy szabályozó transzkripciós faktor segítségével (VirG) válaszreakciót indít el. Ennek eredményeként a virulencia régió génjeiről fehérjék szintetizálódnak, melyek

- egyfonalas kópiát készítenek a T-DNS régióról és kivágják az átjuttatandó szálat (VirD1, D2 fehérjék),

- lehetővé teszik a baktérium és a gazdasejt közötti összeköttetés (T-pílus) kialakítását (VirB és VirD4 fehérjék)

- beburkolják az átjuttatandó T-DNS-t olyan fehérjékkel, melyek védik a transzport során és lehetővé teszik, hogy bejusson a gazdasejt sejtmagjába (VirE2 és VirF fehérjék)

- biztosítják, hogy nagy hatékonysággal integrálódjon a gazdasejt sejtmagi DNS-ébe (VirD2 „pilóta” fehérje).

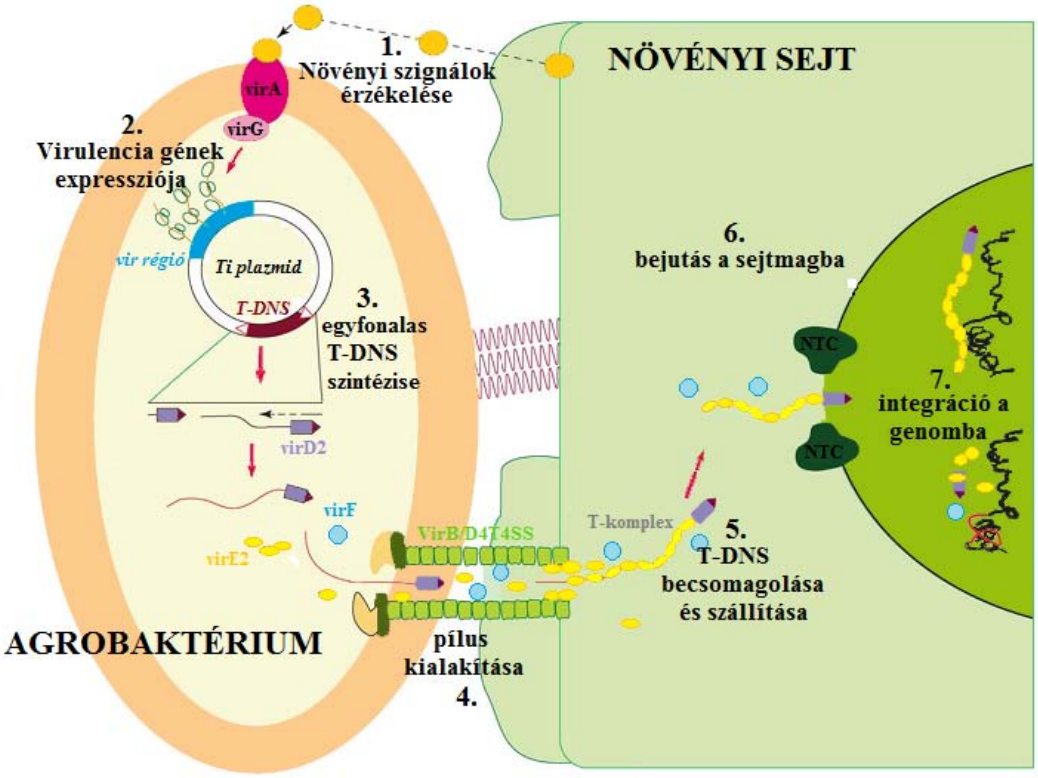
A baktérium gazdasejtbe beépített T-DNS-e olyan géneket tartalmaz, melyek konstitutívan expresszálódnak az eukarióta gazdasejtben és az általuk kódolt fehérjék a baktérium számára szükséges „opinokat” szintetizálnak. Találhatók továbbá a T-DNS-ben olyan gének, melyek a transzformált sejtek osztódását, tumoros sejtburjánzást serkentő hormonok szintéziséért felelősek.

Az *Agrobacterium* nagyon hatékony transzformációs rendszer, melynek a kívánalmak szerint átalakított plazmidját széles körben használják a nemesítési eljárások során gének bejuttatására. Ilyenkor az eredeti plazmid T-régiójából főként az opinszintézis génjeit, valamint a hormongéneket távolítják el (utóbbiak eltávolítása szükéges, ha a transzformált sejtekből teljes növény regenerálása a cél, ugyanakkor a transzformált szövetek organogeneziséhez, tehát hajtás és gyökérképzéshez kívülről, szabályozottan a táptalajhoz adott hormonok szükségesek).

A növényi szövetek *Agrobacterium*-közvetített transzformálása számos *in vitro* és *in vivo* technikával megoldható, pl. szövetek rázatása, vákuum-infiltrálása vagy együtt-tenyésztése (co-cultivation) a baktérium-szuszpenziót tartalmazó tápoldatban. Az említett eljárások mára már gazdaságilag fontos kétszikű és egyszikű növényeknél (utóbbiaknál gyakran éretlen embriókat felhasználva) is sikerrel alkalmazhatók. Az *in vitro* tenyésztés elkerülhető virágbimbók *Agrobacterium* szuszepnzióba mártásával (floral deep), mely főleg a könnyen transzformálható növényeknél bizonyult sikeresnek.

A stabil transzformációk mellett átmeneti transzformációk is megvalósíthatók, melyek során az intakt növény valamely része – pl. levél – fokozottan termeli a kívánt produktumot (magnifection), de a termeltetés befejeztével a transzformált növényi rész feldolgozásra kerül, a genetikai módosítás nem marad fenn.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



1.16. ábra Az *Agrobacterium* által megvalósított genetikai gyarmatosítás vázlata. 1. A baktérium a konstitutívan expresszálódó szenzor kináz- válasz regulátor (virA/virG) fehérjék segítségével érzékeli a növényi szignálokat (fenoloidok, pl. acetosziringon) és 2. elindítja a virulencia régió génjeinek expresszióját. A keletkezett fehérjék 3. egyfonalas mobilis kópiát (ss-T-DNS) készítenek a T-DNS szakaszról és kivágják. 4. T-pílust hoznak létre a baktérium és a növény között. 5. A kivágást és a növényi genomba beépülést elősegítő virD2 féhérjével együtt becsomagolják és átjuttatják a píluson. 6. A növény importin fehérjéivel kapcsolódva a T-DNS bejut a sejtmagba, majd 7. integrálódik a genomba.

1.4.1.3. A plasztiszok transzformációja

A közvetlen transzformációs eljárások (biolisztikus eljárás) lehetővé teszik a sejtmagi genom módosításán túl az organelláris genomok, elsősorban a viszonylag stabil genomszerveződésű plasztiszok módosítását. A plasztiszok módosítása számos előnnyel járhat a sejtmagi genom transzformációjával összevetve.

- Az organellum prokarióta típusú génexpressziójának köszönhetően egy szabályozó régió több gén kifejeződését irányítja, így közös szabályozással szinkronizáltan termeltethetők a géntermékek
- A plasztiszok nagy számban vannak jelen a sejtekben, genomjuk organellumon belül is többszörös kópiában van jelen, így nagy arányban termeltethetők a kívánt produktumok
- A keletkezett termék a plasztiszon belül, a citoplazmától elkülönülten található, így a nagy mennyiségben felhalmozódó fehérjék, vagy más produktumok nem váltanak ki nem kívánatos pleiotrop hatásokat
- A plasztiszok a magasabbrendű gazdasági szempontból jelentős növényekben nem terjednek a pollennel, így a transzgének nemkívánatos kikerülésének és átkereszteződésnek a veszélye nem áll fenn.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

1.4.2. A transzgénikus növények előállításának céljai, gyakorlati alkalmazások

1.4.2.1. A növény védelme

A transzgénikus növények létrehozásának legkorábban megfogalmazott célkitűzései között szerepelt olyan növények előállítása, melyek valamilyen rezisztenciával bírnak rovar, vagy víruskártevőik ellen, gyomirtószerekre rezisztensek, vagy stressztoleránsak, illetve jobban megfelelnek a termesztési, tárolási feltételeknek. A transzgénikus növények első generációja többnyire ilyen rezisztencia-sajátságokat hordozott, melyek kialakításáért általában egyetlen gén a felelős.

A talajlakó *Bacillus thuringiensis* baktérium toxinja a múlt század eleje óta ismert rovarölő hatásáról, magát a baktériumot közvetlenül is használják biológiai rovarirtásra több mint 50 éve. A baktérium δ-endotoxinokat (szűk gazdaspecifitású toxikus kristályfehérjéket) termel, melyek a rovarok lúgos emésztőrendszerében aktiválódnak, majd az epitheliális sejtek receptoraihoz kötődve beépülnek a membránba pórusokat létrehozva, mely a sejtek és a rovar pusztulását okozza. Számos gazdasági szempontból fontos növény (pl. kukorica, szója, gyapot) rezisztens változatát alakították ki δ-endotoxinok génjének bevitelével, melynek szabályozott – pl. rovarrágásra indukálódó - termelődése lehetővé teszi a növény vegyszermentes védelmét specifikus kártevői ellen, ugyanakkor más élőlényeket nem károsít. A rovarkártevők ellen rezisztens növények kialakíthatók növényi eredetű gének bejuttatásának eredményeként is. Az általuk kódolt inhibítor fehérjék lehetnek specifikus proteináz gátlók, lektinek, α-amiláz inhibítorok vagy kellemetlen ízű, szagú vegyületek szintéziséért felelős fehérjék, melyek elpusztítják, vagy elrettentik a predátorokat.

A termesztett növények körében nagyon gyakori herbicidrezisztencia kialakítása GM technológiával. A herbicidrezisztencia kialakítása többféle módon lehetséges. Az egyik leggyakrabban használt herbicid, a glyphosate ellen, mely az aromás aminosavak bioszintézisének egyik kulcsenzimét, az enolpiruvil-sikimisav-foszfát-szintázt (EPSPS) gátolja, kialakítottak olyan rezisztens növényeket, melyekbe rezisztens baktériumból (*S. typhimurinum)* származó EPSPS gént építettek be. Megnövelhető a tolerancia a saját gén fokozott expressziójával is, mely konstitutív promoter beépítésével lehetséges.

Víruskártevőkre rezisztens növényeket is kalakítottak már a múlt század végén, olyan módon, hogy a vírus köpenyfehérjegénjét építették be a növény genomjába, melynek expresszió géncsendesítés révén gátolta a fertőzött szövetben a vírus szaporodását, sőt szisztemikus jelként a távolabbi szövetekbe szállítódva is gátolta a vírus terjedését.

A baktériumokkal szembeni ellenállóképesség növelése is számos módon elősegíthető; törekvések irányulnak a patogén felismerés és az immunválasz fokozására, vagy olyan anyagok termeltetésére, melyek elnyomják a baktériumokban a populáció méretétől függő jelközvetítést (quorum sensing), ezáltal azok kis baktériumszám mellett elindítják a növények védekező mechanizmusait, így a növény sikerrel veszi fel a küzdelmet a patogénnel. Az acil-homoszerin lakton termelő transzgénikus dohány volt az első növény, mely kis baktériumszám mellett elindította a *Chromobacterium violaceumban* a violacein termelést. Ennek hatására indukálódott a növény védelmi mechanizmusa, rezisztenciát eredményezve a baktérium ellen.

A környezeti tényezőkre rezisztens növények előállítása gyakran több gén együttes bevitelének és összehangolt expressziójának eredménye, esetenként azonban egyetlen transzporter (pl. a $Na^+ – H^+$ antiporter) génexpressziójának megváltoztatása is eredményezheti.

1.4.2.2. Táplálkozásélettani, gyógyászati vagy ipari szempontból fontos anyagok termeltetése

A transzgénikus növények előállításának a genom, transzkriptom, proteom és metabolom ismeretére alapuló technikái nagyon sokféle célkitűzés megvalósítását alapozzák meg. Lehetővé vált többek között a fogyasztó számára

- megfelelő táplálékösszetétel biztosítása (biofortifikáció) vitaminok, ásványi anyagok, lipidek, stresszvédő másodlagos anyagcseretermékek termeléséért felelős gének bevitelével, vagy a meglévő gének működésének befolyásolásával,

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

- aktív immunitás, védettség kialakítása ehető vakcinák, vagy egyéb, gyógyászati és dignosztikus fehérjék termeltetésével – („plantibodies”), továbbá
- környezetkímélő, természetes úton lebomló műanyagok alapanyagainak
- vagy üzemanyagként hasznosítható produktumoknak az előállítása mind szabadföldi körülmények között nevelt transzgénikus növényekkel, mind pedig labortóriumi/zárt üzemi körülmények között nevelt növényekkel, vagy szövetkultúrákkal.

A fejlődő országokban gyakran fennálló – az egyoldalú és nem megfelelő mennyiségű táplálékbevitel következtében kialakuló - a WHO adatai szerint évente mintegy 500 000 gyermek vakságát okozó – vitaminhiány leküzdésére Potricus és munkatársai az A vitamin előanyagát, a β-karotint termelő „aranyszemű rizst” állítottak elő. Bár a β-karotin szintézis levelekben működik rizsben, a magban megvalósuló szintézishez a bioszintézis út enzimei közül a fitoin-szintáz és a fitoin-deszaturáz enzimeket egy endospermiumban expresszálódó gén (glutelin) szabályozó régiójával együtt kellett bejuttatni. A licencet ingyen a fejlődő országok rendelkezésére bocsátották. Mára jelentős azoknak a zöldség, gyümölcs és gabonaféléknek a száma, melyekben transzgenikus úton sikerült humán egészségügyi szempontból fontos rákellenes, antioxidáns, vérnyomáscsökkentő, szív- és érrendszeri betegségek ellen hatásos karotiniodokat, antocianinokat, flavonoidokat, és egyéb speciális anyagokat termeltetni.

Ugyancsak elsősorban a fejlődő országok egészségvédelme szempontjából jelentős olyan transzgénikus növények előállítása, melyek ehető vakcinákat termelnek. Ilyen pl. a Hepatitis B vírus felszíni antigént ehető vakcinaként termelő banán, de számos más vírus és baktérum elleni ehető vakcinákat termelő növényt is előállítottak. Az eukarióta fehérjék transzgénikus növényekben való termeltetése azért előnyös a prokarióta rendszerekkel szemben, mert a szintézisüket követő utólagos módosulások lehetőségei jobban hasonlítanak az állati fehérjék módosulásihoz, mint a prokariótáké.

A lipidösszetétel megváltoztatására irányuló törekvések a tápláléknövények esetében az egészségügyi szempontból fontos telítetlen zsírsavak arányának növelését célozzák, ugyanakkor az ipari célokra történő módosítások (pl. a hidroxilálás, epoxidálás, láchossz-növelés) műanyagok, festékek, gyanták, kenőanyagok előállításának lehetőségét biztosítják.

Lebomló műanyagok alapanyagai előállíthatók növényi polimerekből (keményítő, cellulóz, lipidek, vagy fehérjék), de bakteriális polimerek termeltetése is lehetséges prokarióta eredetű gének bevitelével (pl. polihidroxibutirát).

Bioüzemanyagok (bioetanol, biodízel) hatékonyabb előállítása is lehetséges számos takarmány- és haszonnövényből (kukorica, cukornád szója, *Miscanthus*, fás növények stb.) melyek genetiai módosítása hatékonyabbá teszi a termelést.

1.4.2.3. Környezetvédelem, fitoremediáció transzgénikus növényekkel

A növények igen jelentős környezetvédelmi felhasználási lehetőségét változatos anyagcseréjüknek az a különlegessége biztosítja, hogy a toxikus anyagokat – nehézfémeket, xenobiotikumokat, egyéb szerves és szervetlen anyagokat – képesek felvenni környezetükből, majd méregteleníteni, átalakítani vagy változatlan formában, elkülönítve tárolni olyan módon, hogy az anyagcseréjüket ne zavarja. Célzott transzgénikus módosításokkal ezek a sajátságok tovább javíthatók, specializálhatók. A **környezetszennyező anyagok növények segítségével történő eltávolítását, ártalmatlanítását fitoremediációnak nevezzük**.

A növények legfontosabb fitoremediációs stratégiái a következők:

- **fitovolatilizáció**: a szennyező anyag felvétele a talajból, majd kevésbé toxikus illékony formába alakítása;
- **fitoextrakció**: a szennyezés felvétele a környezetből és elkülönítése a sejtben,
- **fitostabilizáció**: olyan anyagok kibocsátása a talajba, melyek felvehetetlenné teszik a szennyezést
- **fitodegradáció**: olyan anyagok kibocsátása a talajba, melyek – esetleg más szervezetek, pl. mikroorganizmusok segítségével - felgyorsítják a szennyeződések lebontását.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Transzgénikus növények előállításával ezek a lehetőségek célzottan, többféle módon megvalósíthatók. Nehézfémek (Cd, Cu) elleni tolerancia alakítható ki pl. a fitokelatin-szintáz gének bevitelével, vagy expressziójának fokozásával. A növényekben ugyanis a nehézfémek, vagy szerves toxinok is – a fitokelatin-szintáz által előállított glutationhoz (vagy egyéb fitokeletinokhoz, szerves savakhoz, metallotioneinekhez) kötődve szállítódnak a vakuólumba, ahol elkülönülten tárolódnak. A növények ilyenkor élelmiszerként nem használhatók, de a nehézfémek akár vissza is nyerhetők belőlük – ez az eljárás a „fitomining”.

Szerves higanyszennyezést méregtelenítő transzgénikus növényeket olyan bakteriális gének bevitelével hoztak létre, melyek a szerves higanyt ionos, majd a még kevésbé toxikus illékony formába alakítják. A MerB (szerveshigany-liáz) bakteriális enzim bontja a CH_3-Hg kötést és ionos Hg(II) keletkezik, majd a MerA (ionoshigany-reduktáz) enzim elemi, illékony formába alakítja a higanyionokat. *Arabidopsis*ba, repcébe, dohányba, nyárba stb. vittek be ilyen géneket, melyekkel megakadályozható a szerves Hg-vegyületek táplálékláncba kerülése és felhalmozódása.

A növények környezetében gyakran toxikus mennyiségben előforduló Al felvehetetlen $Al(OH)_3$ csapadékká alakítása a gyökérkörnyezet pH-jának megváltoztatásával, vagy kelátorok kibocsátásával ugyancsak megoldható transzgénikus növényekkel.

A foszformobilizálás elősegítése és környezetszennyezőként való megjelenésének elkerülésére is lehetséges transzgénikus növényekkel. A foszfor főleg fitinsav (inozitol-hexafoszfát) formában található a növényekben, melyet az állatok emésztőrendszere nem bont le. A trágya felhasználásával nő a talaj foszfátterhelése, ezáltal a természetes vizekbe bekerülés és az eutrofizáció. Magasabb fitáz aktivitású transzgénikus növényekkel növelhető a fogyasztókban a foszfor felhasználása, ami egyben azok vas- és cinkfelvételét is javítja.

1.5. Irodalomjegyzék

Archibald, J. M. and Lane, C. E.	Going, Going, Not Quite Gone: Nucleomorphs as a Case Study in Nuclear Genome Reduction.	Journal of Heredity, 100, 582–590, 2009.
Baulcombe, D. C.	Mechanisms of pathogen-derived resistance to viruses in transgenic plants.	Plant Cell, 8, 1833–1844, 1996.
Bennett , M. D. and Leitch, I. J.	Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow.	Annals of Botany, 107, 467–590, 2011.
Bennett, M. D. and Smith, J. B.	Nuclear DNA amounts in angiosperms.	Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B 274, 227–274, 1976.
Bennett, M. D.	Variation in genomic form in plants and its ecological implications.	New Phytol., 106, 177–200, 1987.
Casacuberta, J. M. and Santiago, N.	Plant LTR-retrotransposons and MITEs: control of transposition and impact on the evolution of plant genes and genomes.	Gene, 311, 1–11, 2003.
Comfort, N. C.	From controlling elements to transposons: Barbara McClintock and the Nobel Prize.	Trends in Genet., 17, 475-478, 2001.
Gleba, Y., Klimyuk, V., Marillonnet, S.	Viral vectors for the expression of proteins in plants.	Current Opin. Biotechnol., 18, 134–141, 2007.
Nature special issue	GM CROPS: PROMISE & REALITY	Nature, 497, 22-23, 2013.
Goldman, I. L.	Molecular breeding of healthy vegetables.	.Embo Reports, 12, 96-101, 2011.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Gust, A. A., Brunner, F., Nürnberger, T.	Biotechnological concepts for improving plant innate immunity.	Current Opin. Biotechnol., 21, 204–210, 2010.
Hirsch, C. N. and Buell, C. R.	Tapping the Promise of Genomics in Species with Complex, Nonmodel Genomes.	Annu. Rev. Plant Biol., 64, 89–110, 2013.
Hotto, A. M., Germain, A., Stern, D. B.	Plastid non-coding RNAs: emerging candidates for gene regulation.	Trends in Plant Science.17, 737-744, 2012.
Jiang, N., Bao, Z., Zhang, X., Eddy, S. R., Wessler, S. R.	Pack-MULE transposable elements mediate gene evolution in plants.	Nature, 431, 569-573, 2004.
Jiang, N., Feschotte, C., Zhang, X., Wessler, S. R.	Using rice to understand the origin and amplification of miniature inverted repeat transposable elements (MITEs).	Current Opin. Plant Biol., 7, 1–5, 2004.
Kapitonov, V. V. and Jurka, J.	Helitrons on a roll: eukaryotic rolling-circle transposons.	Trends in Genetics, 23(10) 521-529, 2007.
Kapitonov, V. V., and Jurka, J.	Rollingcircle transposons in eukaryotes.	. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98, 8714–8719, 2001.
Knight,. C. A., Molinari, N. A., Petrova, D. A.	The Large Genome Constraint Hypothesis: Evolution, Ecology and Phenotype.	Annals of Botany, 95, 177–190, 2005.
Krupinska, K., Melonek, J., Krause, K.	New insights into plastid nucleoid structure and functionality.	Planta, 237, 653–664, 2013.
Larkum, A. W. D., Lockhart, P. J., Howe, C. J.	Shopping for plastids.	Trends in Plant Sci., 12, 189-196, 2007.
Logemann, E., Birkenbihl, R. P., Ülker, B., Somssich, I. E.	An improved method for preparing Agrobacterium cells that simplifies the Arabidopsis transformation protocol.	Plant Methods, 2006. 2, 16 http://www.plantmethods.com/content/2/1/16
Maagd, R. A., Bravo, A., Crickmore, N.	How Bacillus thuringiensis has evolved specific toxins to colonize the insect world.	Trends in Genet., 17, 193-198, 2001.
McDermott, P., Connolly, V., Kavanagh, T. A.	The mitochondrial genome of a cytoplasmic male sterile line of perennial ryegrass (Lolium perenne L.) contains an integrated linear plasmid-like element.	Theor. Appl. Genet., 117, 459–470, 2008.
Murray, B. G.	Nuclear DNA amounts in gymnosperms.	Ann. Bot., 82 (Suppl. A), 3–15, 1998.
Ogihara, Y., Isono, K., Kojima, T., Endo, A, Hanaoka, M., Shiina, T., Terachi, T, Utsugi, S., Murata, M., Nori, N., Takumi, S., Ikeo, K., Gojobori, T., Murai, R., Matsuoka, Y., Ohnishi, Y., Tajiri, H., Tsunewaki, K.	Structural features of wheat plastom as revealed by complete sequencing of chloroplast DNA.	Mol. Genet. Genom., 266, 740-746, 2002.
Pardo, J. M.	Biotechnology of water and salinity stress tolerance.	Current Opin. Biotechnol., 21, 186-196, 2010.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Peterson-Burch, B. D., Wright, D. A., Laten, H. M., Voytas, D. F.	Plant retroviruses.	Trends in Genet., 16, 151-152, 2000.
Potrykus, I.	Golden rice and beyond.	Plant Physiol.,125, 1157-1167, 2001.
Schmidt, T. and Heslop-Harrison, J. S.	Genomes, genes and junk: the large-scale organization of plant chromosomes.	Trends in Plant Sci., 3, 195-199, 1998.
SunilKumar, G. B., Ganapathi, T. R., Revathi, C. J., Srinivas, L., Bapat, V. A.	Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic banana plants.	. Planta 222, 484-493, 2005.
Swift, H. H.	The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei.	Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 36, 643–654, 1950.
Thomas, C. A.	The genetic organization of chromosomes.	Annu. Rev. Genet., 5, 237–256, 1971.
Tzfira, T. and Citovsky, V.	Agrobacterium-mediated genetic transformation of plants: biology and biotechnology.	Current Opin. Biotechnol., 17, 147–154, 2006.
Vega-Sanchez, M. E. and Ronald, C. P.	Genetic and biotechnological approaches for biofuel crop improvement.	Current Opin. Biotechnol., 21, 218–224, 2010.
Voinnet, O., Pinto, Y. M., Baulcombe, D. C.	Suppression of gene silencing: a general strategy used by diverse DNA and RNA viruses of plants.	Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 96, 14147–14152, 1999.
Wolfe, K. H.	Yesterday's polyploidization and the mistery of diploidization.	Nat. Rev. Genet. 2, 333-341, 2001.
Yang, L., Bennetzen, J. L.	Distribution, diversity, evolution, and survival of Helitrons in the maize genome.	Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,106, 19922–19927, 2009.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2. fejezet - A növények vízháztartása, ásványi táplálkozása, transzportfolyamatok

szerző: Dr. Fodor Ferenc

2.1. A növények vízháztartása

2.1.1. A víz fontosabb tulajdonságai a növényi élet szempontjából

A növények, akárcsak minden élőlény számára a víz nélkülözhetetlen. A növények sejtjeinek, szöveteinek túlnyomó részét, átlagosan 75-95%-át víz alkotja. A fás növények 35-75%-a, a mag, a legkisebb nedvesség tartalmú növényi képlet víztartalma is 5-15%. A sejtekben a vakuolum 98%-a, a citoplazma 95%-a, míg a sejtfal 50%-a víz. A víz számos funkcióval rendelkezik: oldószer, közeg, reagens. Minden ion és molekula vízben oldva szállítódik, de a vízmolekulák szétválva hidroxid és hidroxónium ionokra a növényi sejtek energiaháztartásában is fontos szerepet játszanak. A víz biztosítja általában a növények szöveteinek szilárdságát, belső nyomását, vagyis a növekedéshez szükséges turgort. Végül a levelekből a levegőbe leadódó, elpárolgó víz a nyári melegben hűti a leveleket.

A vízmolekulák egy oxigén és két hidrogénatomból állnak, mely összetételből következően a molekulák asszimetrikusak, dipólusosak, az oxigénatomon parciális negatív, a hidrogéneken parciális pozitív töltéssel. Ez a szerkezet azt eredményezi, hogy a molekulák egymással hidrogén-híd kötést létesíthetnek, akár egyszerre 50-100 molekula is összekapcsolódhat 10^{-11} s-ig, kvázi kristályos szerkezetet kialakítva a tiszta vízben. Továbbá a töltéssel rendelkező felületekhez a megfelelő pólusával kapcsolódhat a víz, ezzel hidrátburkot kialakítva talajrészecskéken, membránokon, makromolekulákon, vagy oldott ionokon. E tulajdonságainak köszönhető kiváló kohéziós és adhéziós hajlama, a vízfelületen kialakuló felületi feszültség és a nagy szakító szilárdsága. A kapillárisban felszívott vízoszlop csak jelentős szívóerő alkalmazásával szakítható meg. Ezek a fizikai és kémiai tulajdonságok magyarázzák a víz univerzális jelentőségét és egyúttal a növények vízháztartásának vizsgálata során feltáruló fiziológiai jelenségeket.

2.1.2. A víz mozgása a növényekben

A szárazföldi növények a vizet a talajból veszik fel gyökerükön keresztül, majd a száron/törzsön át a levelekben szállítják, ahonnan elpárolog a légkörbe. A növényen belül a víz a sejtfalakon és a sejtmembránon át jut a citoplazmába, illetve azon belül a vakuólumba, és megfelelő körülmények között fordított útvonalon adódik le a külső környezetbe. Látható, hogy a víz a növényekben nagy és egészen mikroszkopikus távolságokon át is mozoghat. Vizsgáljuk meg milyen erő hajtja a vizet a talajból a levelekbe, a környezetből a sejtekbe, illetve sejtről sejtre!

Rövid távon, pl. egy sejt és környezete között a vízmozgást a **diffúzió** hajtja. A részecskék hőmozgásának köszönhetően a koncentráció (figyelem: a víz koncentrációjáról van szó!) kiegyenlítődik. Ezt a jelenséget Fick törvénye írja le:

$$J_w = -D_w \frac{\Delta C_w}{\Delta x}$$

ahol J_w az anyag (víz) áramlás sebessége ($[J_w]$ = mol m^{-2} s^{-1}), D_w a diffúziós koefficiens, $\Delta C_w/\Delta x$ pedig a víz koncentráció különbsége x távolságon át.

Hosszú távon, pl. a gyökér és a hajtás között, vagy akár a talaj két pontja között nem nyújt magyarázatot a víz mozgására a diffúzió törvénye, hiszen számos más fizikai hatás is közrejátszik a folyamatban, pl. a gravitáció. Ilyenkor a víz **tömegáramlás**sal mozog, aminek hajtóereje a két vizsgált pont közötti nyomáskülönbség. A szárban

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

ráadásul a xilém elemekben halad a víz a hajtás felé, amit leegyszerűsítve felfoghatunk egy csőnek is. Csőben a tömegáramlást a Poiseuille egyenlet írja le:

$$J_v = \frac{\pi \times r^4}{8\eta} \times \frac{\Delta P}{\Delta x}$$

ahol J_v a vízáramlás sebessége, r a cső sugara, η az áramló folyadék viszkozitása, $(\Delta P/\Delta x)$ pedig a nyomáskülönbség x távolságon át.

A sejtmembránon és más organellumok membránján át történő vízmozgás jellemzésére azonban önmagában mindkét egyenlet kevésnek bizonyul. Féligáteresztő (szemipermeábilis) membrán két oldala között a víz mozgását az **ozmózis** jellemzi. Ennek hajtóereje pedig a koncentráció gradiens és a nyomás gradiens összege ($\Delta C_w/\Delta x + \Delta P/\Delta x$). Ebből kiindulva fizikai kémiai összefüggések és törvények segítségével írhatjuk le a víz mozgását.

A **víz kémiai potenciálja** a növény vagy környezete bármely pontján:

$$\mu_w = \mu_w^\circ + R \times T \times \ln\left(\frac{a_w}{a_w^\circ}\right)$$

ahol μ_w° a tiszta víz kémiai potenciálja (a biológiai rendszerekben azonban a vízben mindig vannak oldott anyagok ezért) a hozzáadott részben R a gázállandó, T a hőmérséklet, a_w a víz aktivitása a rendszerben és a_w° a tiszta víz aktivitása. A kémiai potenciál mértékegysége J mol^{-1}, vagyis energia/anyagmennyiség. A kémiai potenciál megváltozása megmutatja, hogy az adott hely víztartalma (koncentrációja) csökken vagy nő, illetve, hogy két szomszédos hely között milyen irányú vízmozgás történik.

2.1.2.1. A vízpotenciál

A kémiai potenciál nemcsak a membránokon keresztül történő vízmozgáskor alkalmazható tehát, hanem bárhol, bármilyen rendszerben. A képlet alkalmazása azonban körülményesnek bizonyult pl. a növények vízháztartásának jellemzésére, ezért 1969-ben Taylor és Slatyer egy egyszerűsített formáját vezette be a növényélettanba:

$$-\Psi = \frac{\mu_w - \mu_w^\circ}{V_w'}$$

ahol Ψ a **vízpotenciál** és V_w' a víz parciális molális térfogata (18 cm^3 mol^{-1}). A tiszta víz kémiai potenciálja, μ_w° 25 °C-on és 0,1 MPa nyomáson nulla. A vízpotenciált energia/térfogat, vagyis nyomás (MPa), egységekben adjuk meg, tehát ez sokkal egyszerűbben használható, mint a kémiai potenciál. A biológiai rendszerekben a vízpotenciál értéke mindig negatív. Másik előnye, hogy könnyen kifejezhető különböző tagok összegeként:

$$\Psi = \Psi^\circ + \Psi_p + \Psi_\pi + \Psi_\tau + \Psi_g$$

ahol Ψ° a tiszta víz potenciálja, ami 25 °C-on és 0,1 MPa nyomáson 0, Ψ_P a turgornyomás, Ψ_π az ozmózis nyomás, Ψ_τ a mátrix potenciál és Ψ_g a gravitációból származó nyomásérték. E tagok széles tartományban eltérő értékeket vehetnek fel, így különböző körülmények között egyesek meghatározóak a Ψ értékének kialakításában, míg mások elhanyagolhatók. Vizsgáljuk meg miből származnak az egyes tagok!

2.1.2.2. Az ozmózis nyomás és az ozmotikus potenciál

Az ozmózis nyomás (Ψ_π, másik gyakran használt jele a Π) a vízben oldott anyagok vízpotenciálra gyakorolt hatását fejezi ki. Minden oldott anyag csökkenti ugyanis a víz koncentrációját a vizsgált helyen (oldatban). Ez a következőképpen fejezhető ki:

$$\Pi = \frac{R \times T \times \ln a_w}{V_w'}$$

Az oldatok **ozmózis nyomás**a azzal a hidrosztatikus túlnyomással egyenlő, amit az oldatra kell gyakorolni ahhoz, hogy az oldószer (vagyis a víz) kémiai potenciálja (vagyis aktivitása) egyenlő legyen a tiszta oldószer kémiai

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

potenciáljával, azonos hőmérsékleten (Bennet-Clark). Tekintettel arra, hogy a biológiai rendszerekben általában csak híg vizes oldatokkal kell számolni, a víz aktivitása ~1. A fenti képletből következik, hogy a természetes alapú logaritmus és a negatív előjel miatt a Π értéke pozitív!

Az oldott anyagok hatásának vizsgálata egy olyan képlet segítségével, amely nem az anyag, hanem az oldószer koncentrációját veszi számításba nehézkes. Ugyanakkor az is probléma, hogy rendszerint a biológiai rendszerekben nem csupán egy, hanem számos különböző anyag van jelen oldott állapotban. Miután azonban ezek, minőségüktől függetlenül, csupán koncentrációjuk révén hatnak, így összegezhetjük a koncentrációkat. Az összes oldott anyag koncentrációjának összegét, tehát moljainak számát térfogat egységre vetítve, az **ozmolaritás** fejezi ki. Ennek segítségével a fenti képletet másként is felírhatjuk:

$$\pi = -R \times T \times c_s$$

ahol π az ozmotikus potenciál és c_s az összes oldott anyag ozmolaritása (osm dm^{-3} egységekben). E képlet már nem tartalmaz logaritmusos tényezőt, így a benne szereplő negatív előjel miatt az ozmotikus potenciál értéke mindig negatív lesz. Segítségével könnyedén kiszámítható egy tetszőleges oldat ozmotikus potenciálja. Az ozmotikus potenciál megmutatja, hogy az oldott anyagok milyen mértékben csökkentik a vízpotenciált. Az ozmózis nyomás és az ozmotikus potenciál számértéke megegyezik, előjelük azonban különböző.

2.1.2.3. A turgornyomás

A növényi sejtek vizes oldatot tartalmaznak, amelyet végső soron a sejtmembrán és az azt körülvevő sejtfal határol. A sejtek normális anyagcsere folyamataikhoz is szervetlen ionokat igényelnek és vesznek fel a külső környezetből, de szintetizálnak vagy felvesznek szerves anyagokat, molekulákat is. Ezek jelenléte vízfelvételhez vezet, ami a sejt térfogatának növekedésével járna együtt. A sejtfal szilárd struktúrája azonban meggátolja a térfogat növekedést, így a sejtmembrán és a sejtfal határfelületén pozitív nyomás alakul ki. E nyomásérték és az atmoszférikus nyomás különbsége a **turgor** (Ψ_P, vagy P). Ha a növényi sejt vagy akár egy hajtásos növény egésze vízzel telt, akkor turgeszcensnek nevezzük. A növények szilárdságát tehát nem csupán a sejtfalak, hanem a turgornyomás is biztosítja. A fejlett növények belső tereiben, mint pl. a xilémben és a floémben azonban szintén kialakulhat az atmoszférikusnál nagyobb, sőt kisebb nyomás is! Ezért a P-vel jelölt tagja a vízpotenciálnak nem csupán a turgort, hanem a **hidrosztatikus nyomás**t is jelölheti, így értéke lehet pozitív vagy negatív.

2.1.2.4. A mátrix potenciál

A különböző töltéssel rendelkező felületeken, mint amilyen a talajrészecskék felszíne, a sejtmembrán vagy az ionok felülete, a vízmolekulák megfelelő pólusukkal rendeződnek, hidrogénhíd kötéseket alakítanak ki és ilyen módon az oldat fázisból a szilárd fázisba lépnek. Ez a rendeződés csökkenti az oldatban a víz koncentrációját és ezáltal a vízpotenciált. A **mátrix potenciál** (Ψ_τ, vagy τ) a vízpotenciál felületeken rendezett vízből származó tagja. Tekintettel arra, hogy a biológiai rendszerekben (pl. egy sejt és környezete) mindenhol fellép ez a jelenség, de a víz koncentrációjának csupán kis részét érinti a számításoknál ezt a tagok gyakran elhanyagoljuk. Bizonyos esetekben azonban, mint pl. a talaj kiszáradása, ahol már csak a talajrészecskék felületén megkötött víz marad a talajban, vagy a magok duzzadásakor, amikor a mag által felvett víz nagy része a felületek hidratációjához használódik fel, a mátrix potenciál lehet a vízpotenciál legfontosabb tagja.

2.1.2.5. A gravitációs nyomás

A gyökérsejtek, amelyek a körülöttük levő talajból veszik fel a vizet nem kell „megküzdjenek” a gravitáció hatásával. A xilémben felfelé áramló nedvre azonban már a magasságtól függően hat a gravitáció. Ezt fejezi ki a következő képlet:

$$\Psi_g = \rho_w \times g \times h$$

ahol Ψ_g a **gravitációs nyomás**, ρ_w a vizes oldat (pl. xilém nedv) sűrűsége, g a gravitációs gyorsulás (9,81 m s^{-2}) és h a magasság. Az oldat sűrűsége általában egyhez közeli érték, így az értékeket kerekítve általánosságban elmondhatjuk, hogy a ρ_w g értéke méterenként 0,01 MPa.

Figyelembe véve, hogy a fentebb ismertetett tagok közül melyik hogyan hat a vízpotenciálra – a felületeken rendeződő víz és a gravitáció hatását nem számítva –, a vízpotenciált az alábbi egyszerűsített képlettel írhatjuk fel:

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

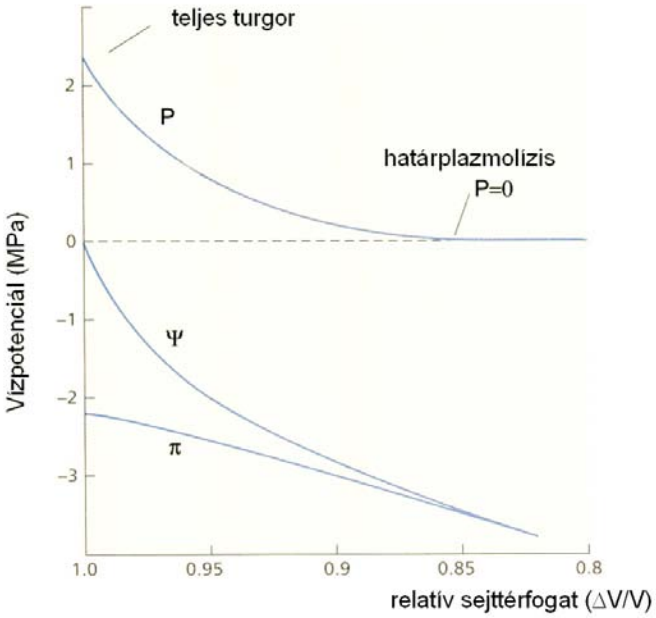
$$\Psi = P - \pi$$

A legtöbb esetben a vízpotenciál tehát jó közelítéssel kiszámítható, ha ismerjük a turgornyomást vagy hidrosztatikus nyomást, illetve az ozmotikus potenciált. A vízpotenciál a növény vízháztartásának mértéke, két pont között számított (ill. mért) különbsége a vízmozgás hajtóereje, vagyis egy növényi sejtről vagy szövetről megmutatja, hogy vizet vesz fel vagy vizet ad le az adott körülmények között. A turgor pedig a növények vízzel teltségét, ill. hervadtságát jellemzi.

2.1.3. A vízmozgást befolyásoló tényezők a növényi sejtben

Míg a vízinövények állandóan egyensúlyt tartanak fent környezetükkel, addig a szárazföldi növények vízfelvétele napi ritmust követ. Ennek oka az, hogy utóbbiak nappal a sztómáikon gázcserét folytatnak, így vizet veszítenek, míg éjjel a sztómák bezárnak és a növény telítődik vízzel. A vízfelvétel addig tart, amíg a növény és környezete között a $\Delta\Psi$ nulla nem lesz. A sejtek vízfelvételét azonban nem a citoplazma és a környezet, hanem vakuólum és a környezet összevetésével vizsgálhatjuk, mert a citoplazma összetétele (homeosztázisa) szigorúan szabályozott, a vakuólumé azonban tág határok között változhat. A vízfelvétellel növekszik a turgornyomás, de elérhető értékét a külső és belső ozmolaritás aránya szabja meg. Elvi maximumát csak akkor érné el, ha a növény gyökere tiszta (oldott anyagtól mentes) vízbe merülne.

A vízpotenciál komponenseinek relatív megváltozását olyan diagramokon ábrázolják, amelynek ordinátája a vízpotenciált, abszcisszája a sejt térfogatának relatív megváltozását mutatja (**2.1. ábra**). Ha egy turgeszcens sejtet hiperozmotikus oldatba helyezünk a vízleadás következtében a turgornyomása gyorsan csökkenni kezd, majd később lassul a változása. Ezzel szemben az ozmotikus potenciál csökkenése sokkal kiegyenlítettebb. Tehát a relatív sejttérfogat csökkenésekor a vízpotenciál csökkenését eleinte a turgor csökkenés, később – a határplazmolízis beállta után – kizárólagosan az ozmotikus potenciál csökkenése határozza meg. A plazmolízis jelenségét mikroszkópban jól lehet követni, de mérhetők-e a fenti paraméterek?



2.1. ábra A vízpotenciál komponenseinek változása a sejtben a relatív sejttérfogat függvényében

Nagyméretű alga sejteknél, mint pl. a *Valonia sp.*, amelyek jól vizsgálhatók mikroszkópban, lehetőség nyílt arra, hogy egy nyomásmérő eszközhöz kapcsolt mikrokapilláris beszúrásával megmérjék a turgornyomást. A kapillárist előzőleg szilikonolajjal töltötték fel és az olaj – sejtnedv határfelület mozgatásával (a nyomásmérő mikrométercsavarjának beállításával) lehetett megállapítani azt a nyomásértéket, ami a sejtet jellemzi. A technikát **nyomásszondá**nak nevezzük. Később az eljárás továbbfejlesztése lehetővé tette sokkal kisebb növényi sejtekben is a turgornyomás mérését. Az azóta széles körben alkalmazott technikát **mikro nyomásszondá**nak hívják.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.1.3.1. A rugalmas sejtfal és az elasztikus modulus

A turgornyomás értékét befolyásolja a sejtfal elasztikussága. A primer sejtfal ugyanis még nem tartalmaz szilárdító berakódásokat és ezért bizonyos fokig hajlékony, elasztikus. Ennek következtében, mikor a sejt vizet vesz fel és a sejtmembrán hozzáfeszül a sejtfalhoz, az elkezd kidomborodni, és további vízfelvételt tesz lehetővé. A sejtfal elasztikusságát az **elasztikus modulus** (ε) jellemzi.

A sejtben vízfelvétel következtében beálló nyomásváltozáshoz bizonyos mértékű térfogatváltozás tartozik. A turgornyomás növekedésével egyre kisebb ez a térfogatváltozás. Ha mégis úgy tekintjük, hogy az összefüggés lineáris, akkor jó közelítéssel aránypárt állíthatunk a fel a térfogat és nyomásváltozás között: a kezdeti állapotban mért nyomás- és térfogatérték úgy a2ránylik egymáshoz, mint nyomásváltozás következtében beálló térfogatváltozás.

$$\frac{V}{P} = \frac{\Delta V}{\Delta P}$$

Ebből az ε következőképpen számítható: P = ε, így

$$\varepsilon = V \times \frac{\Delta P}{\Delta V}$$

(Philip egyenlet).

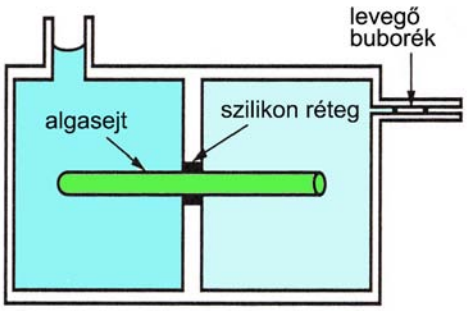
Az ε értékét mérhetjük a mikro nyomásszondával, de ezt megelőzően sikerült megmérni fonalas zöldalgák segítségével is. Az alga sejtfonalból egyetlen sejtet vágtak ki, majd azt is kettévágták. Kimosták a sejtfallal és membránnal körülvett sejtfélből a citoplazmát és a sejtorganellumokat, majd mikromanipulátorok segítségével feltöltötték a fél algasejtet higannyal. A felhasznált higany mennyiségéből kiszámítható a nyomásváltozás, a térfogat és megváltozása pedig a mikroszkópban mérhető. Már ebből a vizsgálatból is kitűnt, hogy az ε értéke attól függően változik, hogy hol vágják el a sejtet. A sejtvégek a fiatalabb, még növekedő részek, itt az ε értéke kicsi, ami azt mutatja, hogy itt rugalmasabbak, elasztikusabbak a sejtfalak, mint a sejt középső részén. Az átlagos ε érték tehát nagy alga sejteknél nagy, kis sejteknél kicsi.

2.1.3.2. A sejtmembránok vízvezető képessége

Az előzőekben a vízmozgás hajtóerejét a diffúzió, a tömegáramlás, illetve az ozmózis törvényeivel definiáltuk. Később megismertük a vízpotenciál fogalmát mely leegyszerűsíti és egységesíti a víz mozgásával kapcsolatos törvényszerűségek kezelését. A vízmozgás hajtóereje tehát a vízpotenciál különbség két pont között (pl. egy sejt és környezete között). Ezt a következőképpen írhatjuk fel:

$$J_v = L_p \times \Delta\Psi$$

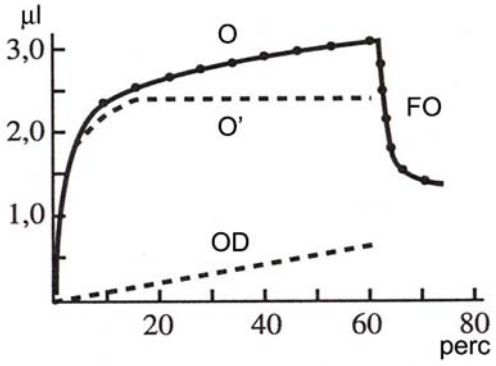
ahol J_v a vízmozgás (áramlás) a két vizsgált pont között és L_p egy arányossági tényező, amely kifejezi a két pont között a közeg (sejtfal, sejtmembrán) vízvezető képességét, **hidraulikus konduktivitás**át. Mértékegysége m s^{-1} MPa^{-1}. Értékét ma már a mikro nyomásszonda segítségével is mérhetjük, de első meghatározásának módja tanulságos, ezért ismertetjük.



2.2. ábra A transzcelluláris ozmózis méréséhez alkalmazott ún. kétkamrás volummétert

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A **transzcelluláris ozmózis** kísérletet ugyancsak egy fonalas alga sejttel végezték. A sejtet egy olyan kétkamrás tartályba helyezték, amelynek két kamráját csupán az algasejt választja el egymástól (a sejt körül szilikonnal szigetelték a két kamra közötti lyukat) (**2.2. ábra**). Az egyik kamrához továbbá egy üvegcső csatlakozott, amelyben levegőbuborék jelezte, ha a kamrában levő oldat valamerre áramlani kezd. A másik, nyitott kamrában lévő oldathoz ozmotikumot adtak, ezzel hiperozmotikussá téve a másik, zárt kamrához, illetve az algasejthez képest. Ekkor az algasejt vizet adott le a hiperozmotikus kamrába(ozmózis), aminek hatására a sejtnek a kamrába nyúló részében a citoszol töményedett, ozmotikusan polarizálódott. A citoplazma rotáció hatására azonban a másik sejtfél citoplazmájával elkeveredett a töményebb rész (ozmotikus depolarizáció). Így a másik kamrából az abban található sejtfél vizet vett fel, hiszen a kamrában található oldat hiperozmotikussá vált a sejthez képest. Ezt a folyamatot láthatjuk a **2.3. ábrán**. Mikor a nyitott kamrában hipoozmotikusra cserélték az oldatot, az előbbivel ellentétes folyamat indult el (fordított ozmózis).



2.3. ábra A transzcelluláris ozmózis folyamatát bemutató diagram (O=ozmózis, FO=fordított ozmózis, OD=ozmotikus depolarizáció, O'=O-OD)

Az L_p értékét a fenti kísérletből úgy lehetett meghatározni, hogy megmérték a két sejtfél felületét (A_1 és A_2) és a fentebb ismertetett képletbe behelyettesítették:

$$J_v = L_p \frac{A_1 \times A_2}{A_1 + A_2} \Delta\Pi$$

A képletben a J_v értékét a levegőbuborékok elmozdulásából határozták meg, míg a $\Delta\Pi$ a két kamra ozmózis nyomásának különbsége, amely az oldott anyagok ozmolaritásának ismeretében számítható ki. (Jelen esetben a $\Delta\Psi$ helyett elegendő $\Delta\Pi$ használnunk, hiszen a két kamra közötti vízpotenciál különbséget csupán az ozmotikus tag adja.) A kísérletből az is kiderült, hogy az L_p különbözik a két sejtfélen, attól függően, hogy vízleadás vagy vízfelvétel történik. Értéke nagyobb a vízfelvételkor, mint vízleadáskor. Az L_p ezen túlmenően függ az ozmotikus potenciáltól és a nyomástól is: minél nagyobb ezek értéke, annál kisebb a hidraulikus konduktivitás.

2.1.3.3. A reflexiós koefficiens

Az eddigiek során csak a víz mozgásával foglalkoztunk és a képletekben, összefüggésekben nem jelent meg annak hatása, hogy valójában a víz benne oldott anyagokkal együtt mozog. Az oldott anyagok mozgása befolyásolja a sejt és környezete közötti vízpotenciál különbséget és vízáramlást. A sejt membránja különböző mértékben ugyan, de permeábilis az oldott anyagokra, ezért a képletet módosítani kell:

$$J_v = L_p(\Delta P - \Delta\pi_{imp} - \sigma\Delta\pi_p - \Delta\tau)$$

ahol $\Delta\pi_{imp}$ az ozmotikus potenciál különbség a membrán két oldala között az impermeábilis oldott anyag(ok)ra nézve, míg $\Delta\pi_p$ a permeáló anyagok esetén fejezi ki ugyanazt. σ a **reflexiós koefficiens**, melynek értéke általában 0 és 1 között van. Ha 1 akkor a membránon csak a víz halad át, ha 0, akkor a membrán nem szelektív, az oldott anyagok is átjutnak. Ha értéke nullánál kisebb lenne, akkor a membrán az oldott anyagra nézve permeábilisabb a víznél.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.1.3.4. A sejtmembránok diffúziós permeabilitása

A sejt és környezete között fennálló vízpotenciál különbség hatására a sejt vizet vesz fel vagy vizet ad le. A folyamat addig tart, amíg a ΔΨ egyenlő nem lesz a nullával. Kérdés azonban, hogy ezután már nincs semmilyen vízmozgás? Izotóp alkalmazásával igazolták, hogy lassú vízkicserélődés történik, amelynek hajtóereje a diffúzió. A vízmozgás leírására tehát a Fick törvény alkalmazható:

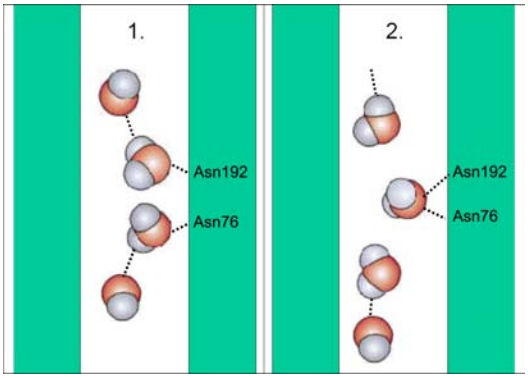
$$J_w = P_d \times \Delta c_w$$

ahol J_w a vízmozgás sebessége felületegységre vonatkoztatva (mol $m^{-2}s^{-1}$), Δc_w a víz koncentráció különbsége és P_d a membrán **diffúziós permeabilitás**a.

2.1.3.5. Vízcsatornák a növényi membránokban

A sejtek vízfelvételét jellemző eddigi megállapítások látszólag ellentmondásban vannak. Ha ugyanis a ΔΨ nulla és a vízmozgást a diffúziós permeabilitás jellemzi, akkor nullánál nagyobb ΔΨ esetén a hidraulikus konduktivitás szabja meg a vízmozgást. Ez azt jelenti, hogy utóbbi esetben a víz áramlik a membránon keresztül, nem pedig diffúzióval mozog. Ezt a látszólagos ellentmondást egy felfedezés oldotta fel. A membránokban olyan fehérje komplexek találhatók, amelyek pórust képeznek, és áteresztik rajtuk a vizet. Ezeket az úgynevezett **vízcsatorná**kat, vagyis **aquaporin**okat először eritrociták membránjában azonosították 1992-ben, majd egy évvel később írták le a vakuólum membránjában is. Hat darab polipeptid láncból állnak, és akkor nyitnak ki, ha a citoplazmatikus oldalon az egyik szerin aminosavmaradék foszforilálódik. A zárást a vízellátás csökkenésekor a defoszforiláció okozza, de akkor is bezáródnak, ha pl. áradás miatt túl sok a környezetben a víz. Ez utóbbi esetben egy hisztidin aminosavmaradék protonálódik. Specifikus inhibitoruk, gátlószerük a higany. Működésük a már megismert hajtóerőn, a membrán két oldala közötti ΔΨ-en alapul, ez szabja meg melyik irányba halad a víz. A csatorna átmérője 0,3-0,4 nm, míg egy vízmolekuláé 0,28 nm. Ez biztosítja a fehérje specificitását a vízre, de ezen túlmenően az aktív centrumban **hidrogén-kötés izoláció** is végbemegy (**2.4. ábra**). Ennek lényege, hogy a csatornában egymás mögött haladó vízmolekulák az aktív centrumban hidrogén híd kötéssel kapcsolódnak egy aszparagin aminosavmaradékhoz, majd egy másikhoz is hozzákötnek. Ez a két kötés olyan orientációjú, hogy a láncban előtte és mögötte haladó vízmolekulával megszakad a hidrogén híd kötése, vagyis izolálódik és a másodperc egy tört részére egyúttal dugót képez a pórusban. Ez meggátolja, hogy másfajta molekula is áthaladhasson a csatornán.

A vízcsatornák jelenléte alapjaiban alakította át a növények vízháztartásáról korábban alkotott képet. Később megállapították, hogy minden típusú membránban vannak vízcsatornák, melyek összesen 4 különböző aquaporin családba sorolhatók.



2.4. ábra A hidrogén-kötés izoláció az aquaporin aktív centrumában. 1. A vízmolekulák egymáshoz és az aquaporinhoz is kötődnek, 2. Az aktív centrumban a vízmolekula orientációt vált, amikor mindkét Asn-nal kötést alakít ki. (A zöld szín az aquaporin polipeptid láncának részletét jelöli.) (Murata et al., 2000 után)

2.1.4. A talaj víztartalma

A szárazföldi növények túlnyomó többsége a talajban fejlődik ki, gyökerei a talajból veszik fel a szükséges tápanyagokat és a vizet. A talaj maga is egy nagyon összetett rendszer, melynek részletes ismertetése a talajtan

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

tárgykörébe tartozik. Itt csak azokat a tényezőket tekintjük át, amelyek befolyásolják a növények vízfelvételét a talajból. A legfontosabbak a talaj víztartalma és a talaj összetétele. A talaj víztartalma függ a talaj összetételétől, struktúrájától és fizikai állapotától. A talaj szilárd anyagát kvarc és agyagrészecskék építik fel eltérő arányban. Ezt kiegészíti a lebomló szerves anyag, a humusz. A talajrészecskék azonban nem illeszkednek szorosan egymáshoz, a köztük lévő teret kitölti a levegő, illetve a **talajoldat**, amely vízből és az oldott ásványi anyagokból áll. A talajban ezeken túlmenően különféle mikroorganizmusok találhatók, illetve a benne élő állatok és növények. A talajrészecskék közül a homokszemcsék nagyobb méretűek (20-2000 μm), míg az agyagszemcsék 2 μm-nél kisebbek. A humusztartalom felületnövelő hatású. A talaj szilárd, folyékony és légnemű fázisának aránya széles határok között változhat. Általában elmondhatjuk, hogy a talaj körülbelül fele szilárd, míg folyadék és légnemű fázisa 25-25%-o tesz ki. A szántóföldi munkák során azonban, egyenletes vízellátást feltételezve, a talaj tömörül, melynek során a légnemű fázis aránya jelentősen csökken. Szárazság hatására a víztartalom is megfogyatkozik, így nőhet a szilárd fázis részaránya.

A talajrészecskék közötti térben, pórusok, járatok alakulnak ki, amelyek mérete a részecskék méretétől függ. A homokos talajban ezek sokkal tágabbak, mint egy agyagos talajban. Méretüktől függően lehetnek **makro-, mezo- és mikropórusok**. A talajoldat ezekben a pórusokban szivárog, vagy áramlik a vízpotenciál különbségnek megfelelően. Minél inkább kiszárad a talaj, annál inkább visszahúzódik a víztartalma a kisebb pórusokba. A vízpotenciál értéke egy átlagos talajnál –0,01 MPa, mely a víztartalom csökkenésének hatására csökken. Nagy sótartalmú talajban a vízpotenciál akár –0,2 MPa-nál is kisebb értéket vehet fel. Egy aszályos időben kiszáradó talajban a vízpotenciál viszont –3 MPa is lehet.

2.1.5. A gyökér vízfelvétele a talajból

A talajban növekedő gyökerek akkor tudnak felvenni vizet a talajból, ha saját vízpotenciáljuk alacsonyabb a talajénál. Egy méréssorozatban valóban ki is mutatták, hogy a talaj vízpotenciáljával egyenes arányosan változik a gyökér vízpotenciálja, a különbség 0,2 és 0,8 MPa volt attól függően, hogy milyen volt a vízellátás. Hogyan képes a gyökér aktívan csökkenteni a vízpotenciálját? A talajból felveszi a növekedéséhez és persze a vízfelvételhez szükséges ionokat, és a sejtfalakban, illetve a sejtek vakuólumaiban fel is halmozza ezeket. A sókoncentráció növekedése csökkenti a vízpotenciál ozmotikus komponensét, amelynek hatására a gyökér vízpotenciálja csökken a talajéhoz képest. Ez lehetővé teszi a vízfelvételt a gyökér melletti talajzónából, ami viszont elkezd száradni. Ezért a talajnak a gyökérrel szomszédos részén ugyancsak csökken a vízpotenciál. A talajban ez a gyökér által okozott száradás hatást gyakorol a távolabbi zónákra is. A gyökér felé mutató vízpotenciál gradiens alakul ki, ami vízáramlást vált ki a gyökér felé. Ez a hatás a gyökér felszínétől kb. 8-10 cm távolságig érvényesül.

Száraz időben, amikor sokáig nem érkezik csapadék utánpótlás, a talaj egyre jobban kiszárad. Vízpotenciálja olyan alacsonnyá válik, hogy a gyökér nem tud már ionok felvételével vízpotenciál különbséget előidézni, így a gyökér és a talaj vízpotenciálja egyenlő lesz. Ilyenkor a növény nem tud vizet felvenni a talajból, de a sztómáin keresztül vizet veszít. Végül lecsökken a turgornyomás és a növény elhervad. A **hervadás**t megakadályozhatja, ha a növényt 100 %-ig páratelt légtérbe helyezzük, amelyben megszűnik a vízvesztés. Bekövetkezhet azonban az az állapot is, amikor már ez sem segít. Ha növény nem képes vizet felvenni a talajból, még 100 % relatív páratartalom mellett sem, akkor kiszámíthatjuk az **állandó hervadás százalék**át: a talaj víztartalma / a talaj száraztömege x 100. Ez a homogén talajra jellemző érték.

2.1.5.1. A guttáció és a gyökérnyomás

A növények vízfelvétele eltérő mechanizmussal történik éjjel és nappal. Éjjel ugyanis a sztómák általában zárva vannak, ami miatt a növény vízvesztése a nappalinak töredékére csökken le. Milyen folyamatok állnak tehát az éjszakai vízfelvétel hátterében?

A növények egy részénél megfigyelhető, hogy jó vízellátás mellet reggelre a levelek csúcsi részén, vagy a szélein harmatra emlékeztető cseppek formálódnak. Ez azonban nem harmat, hanem a levél intercellulárisaiból kipréselődő váladék, xilém nedv, a jelenség neve pedig **guttáció**. E növények levél szélein ugyanis módosult sztómák, ún. **hidatódá**k találhatók, amelyeken keresztül a nedv távozik. Ezt a folyamatot egyértelműen az atmoszférikusnál nagyobb nyomás hajtja, amely a xilém nedv és a talajoldat ozmotikus nyomásának különbségéből adódik ($\pi_{\text{xilém}} - \pi_{\text{külső oldat}}$). Ez a nyomásérték a **gyökérnyomás**. A gyökér tehát ionokat vesz fel a talajból és a sejtjei ezek egy részét leadják a xilémbe, amely a hajtásba irányuló vízmozgást idéz elő:

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

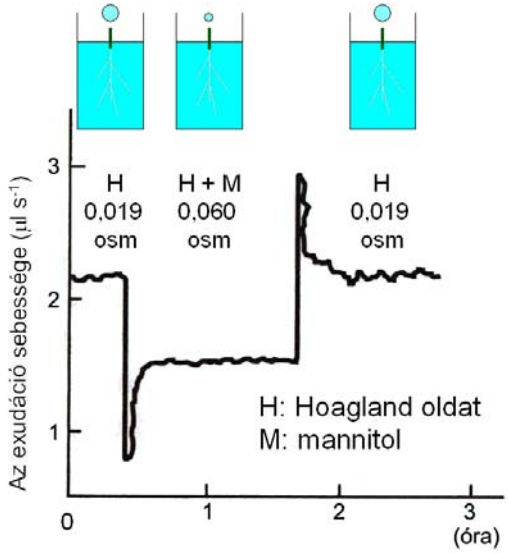
$$J_v = L_p \times \sigma \times R \times T \times (C_s^x - C_s^o) + \Phi_w^o$$

ahol J_v a vízfelvétel sebessége, L_p a sejtek hidraulikus konduktivitása, σ a szállított anyagok reflexiós koefficiense, C_s a xilém és C_s^o a külső oldat ozmolaritása, Φ_w^o az aktív vízfelvételből származó érték.

2.1.5.2. A levágott gyökér vízfelvétele és az exudáció

A fenti folyamattal analóg jelenséget figyelhetünk meg akkor is, ha jól megöntözött talajban, vagy tápoldatban nevelt, tág xilém edényekkel rendelkező növény (pl. *Cucurbitaceae*) hajtását a reggeli órákban levágjuk (**dekapitáljuk**). Ilyenkor ugyanis a vágásfelületen folyamatosan, akár napokig is „**könnyezik**" a növény, vagyis szivárog a xilém nedv, amit akár össze is lehet gyűjteni. A folyamatot szakkifejezéssel **exudáció**nak nevezzük. (Ez figyelhető meg a szőlő kései metszésekor is és ezért „vérzik el" a tavasszal metszett diófa.) Az időegység alatt kiáramló nedv térfogata megadja a J_v értékét.

Mi tartja fenn a gyökérnyomást? A xilém nedv a vízfelvétel következtében folyamatosan hígul. A hígulás a nedv és talajoldat közötti ozmotikus potenciálkülönbség csökkenését idézné elő, ezért a gyökérsejtek folyamatosan ionokat választanak ki a xilémbe, ezáltal fenntartva a talajoldat ozmotikus koncentrációjának megfelelő Δπ értéket.



2.5. ábra Dekapitált növény könnyezése különböző ozmotikus nyomású (Hoagland) tápoldatokban

A tápoldatban nevelt, dekapitált növénnyel végzett kísérletet a **2.5. ábra** szemlélteti. A növény számára szükséges tápsókból összeállított Hoagland tápoldat ozmotikus koncentrációja (ozmolaritása) kiszámítható. Az ilyen tápoldatba merülő gyökér egyenletes sebességgel választja ki a xilém nedvet a vágásfelületen. Ha a tápoldathoz mannitolt, egy nem felvevődő ozmotikumot adunk, akkor megnő az oldat ozmolaritása, és ezért a Δπ lecsökken. Ennek hatására az exudáció sebessége hirtelen lecsökken. Majd a gyökérsejtek nagyobb sebességgel kezdik felvenni és kiválasztani a xilémbe az oldott ionokat, aminek hatására a könnyezés sebessége nőni kezd és – bár alacsonyabb szinten –, de újra stabilizálódik. Ha ezután visszacseréljük az oldatot az eredeti Hoagland tápoldatra, akkor az előbbivel ellentétes folyamatot láthatunk: az exudáció sebessége előbb hirtelen megnő, majd lassan visszaáll a kezdeti értékre. Ez a megfigyelés bizonyítja, hogy a gyökér ún. **felvételi szekréció**val, vagyis a külső tápoldatból felvett ionok xilémbe történő kiválasztásával tartják fenn a gyökérnyomást. Ha az előbbi kísérletben kizárólag a Hoagland oldattal megegyező ozmolaritású mannitolra cseréljük az oldatot, ezáltal meggátolva a külső oldatból az ionfelvételt, a könnyezés mégsem szűnik meg. Ennek hátterében az ún. **szöveti szekréció** áll. Ez azt jelenti, hogy a gyökérsejtek azáltal próbálják meg fenntartani a Δπ-t, hogy a korábban felhalmozott, de ki nem választott ionokat adják le a xilémbe.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.1.6. A víz mozgása a gyökérben

A gyökérbe belépő vízmolekulák nem közvetlenül egy rizodermisz sejt citoplazmájába lépnek be, hanem először a sejteket burkoló sejtfalba. A sejtfalak hálózatos felépítése ugyanis porózus szerkezetet alakít ki, és összességében jelentős belső teret zár közre. Ezt a teret **apoplaszt**nak nevezzük és úgy tekintjük, hogy a sejtmembránt és citoplazmát már nem tartalmazó xilém elemek belső tere is az apoplaszt része. Ezzel szemben a sejtek plazmamembránnal körülhatárolt belső terét, amelyet a szomszédos sejteknél a plazmodezmák kötnek össze az egész növényre kiterjedő hálózatot alkotva, **szimplaszt**nak nevezzük. A növényekben tehát mind az apoplaszt, mind a szimplaszt az egész szervezetre nézve összefüggő teret alkot. A víz (és minden részecske, ion vagy molekula) tehát előbb az apoplasztba lép be, majd onnan veszik fel a sejtek, vagyis lép a szimplasztba. A víz és a benne oldott ionok, molekulák a gyökérben tehát diffúzióval mozoghatnak az apoplasztban, vagy a sejteken belül a szimplasztban. Amennyiben a víz mozgása során a vakuólumba is belép, akkor ún. **transzcelluláris út**on halad. Radiális mozgásának az apoplasztban a központi henger határán található sejtréteg az endodermisz szab gátat, amely sejtfalának hidrofób, szuberines vastagodása (*Caspary*-csík) átjárhatatlanná teszi a víz számára. Plazmodezmákon keresztül azonban a szimplasztja a kéreggel és a sztélével is összeköttetésben áll, így a szimplasztban mozgó víz és az oldott részecskék tovább haladhatnak.

Mi dönti el, hogy milyen útvonalon halad a víz, a sejtfalakban, vagy a sejtekben? Ennek megválaszolására számos kísérletet végeztek. A mikro nyomásszondával megmérték az L_p értékét a különböző sejtekben, gyökérszőrben, rizodermiszben, kéregsejtben és az endodermisz sejtjeiben. Ez azonban csak az egyes sejtek szimplasztjában történő víztranszportról ad információt. Ahhoz, hogy az apoplaszt Lp értékét is megmérjék módosítani kellett a szondán. Olyan eszközt készítettek, amely egy szilikonolajjal feltöltött csővel légmentesen rászerelhető egy levágott gyökércsonkra, és így a szivárgó nedvet nyomni, illetve szívni lehet, miközben a gyökér a tápoldatából ionokat és vizet vesz fel. Ennek segítségével megmérték az egész gyökérszövet hidraulikus konduktivitását (L_{pr}) és összevetették az egyes sejtekben mért értékekkel. Ha a sejtekben mért L_p érték hasonló az L_{pr}-hez, akkor a víz a sejtekben, vagyis a szimplasztban mozog. Ha azonban az L_{pr} nagyobb, mint az L_p, akkor a víz az apoplasztban mozog. Valamint, ha a vízáramlás sebessége a gyökérben (J_{vr}, vagyis az exudáció sebessége) nő, akkor az L_{pr} is nő. A mérések során különböző módszerekkel befolyásolták a vízfelvételt: változtatták a tápoldat ozmolaritását, illetve szívóhatást gyakoroltak a gyökércsonkra. Ilyen módon tehát vagy ozmotikus potenciál gradienssel vagy nyomás gradienssel idézték elő a gyökérben a vízfelvételt, illetve a vízmozgást. A kísérletből kiderült, hogy a a vízáramlás a gyökérben sokkal nagyobb, ha nyomás gradiens mozgatja a vizet ($J_{vr}^{P} >> J_{vr}^{\pi}$). Ebből az is következik, hogy az L_{pr} értéke is nagyobb, ami arra utal, hogy ozmotikus potenciál gradiens hatására a víz a szimplasztban mozog, míg a nyomás gradiens hatására az apoplasztban is mozog.

A hajtásba irányuló vízszállítást tehát éjszaka, amikor a vízfelvételt csupán a gyökeret körülvevő (talaj)oldat ozmolaritása határozza meg, a gyökérnyomás biztosítja. Nappal, amikor a növény a sztómáin át vizet párologtat, a vízszállítást a vízleadás mértéke szabja meg. Ez a vízleadás, a transpiráció, arányos azzal a nyomáskülönbséggel, ami a vizet a hajtásba szállítja.

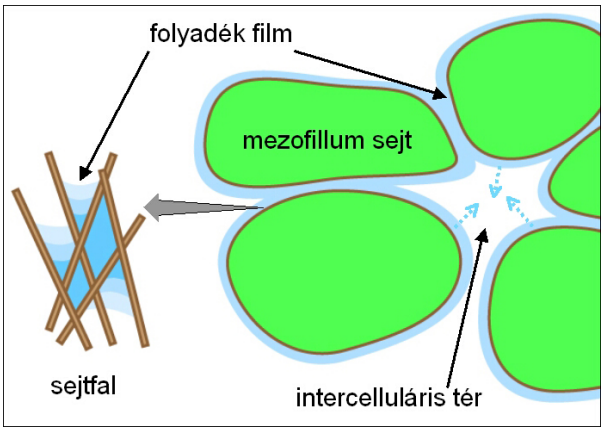
2.1.7. Az intakt növény vízfelvételének kohéziós elmélete

A gyökérből a hajtásba a víz a xilém szállítópályáin jut. A levelekben az erek és bennük az egyre kisebb átmérőjű xilém elemek az egész mezofillumot behálózzák, mindenhová eljuttatják a vizet és a benne oldott anyagokat. Végül, mint egy nyitott végű csőből a xilém nedv szétáramlik az **intercellulárisok**ban. A folyadék a mezofillum sejtek felületén oszlik el, bevonatot képezve. Ebből a bevonatból a sejtek felveszik az életműködéseikhez szükséges ionokat és a vizet. Ugyanakkor az intercellulárisok levegővel telt kamráiban a sejtek felületéről elkezd párologni a víz és megnő a vízgőz tenzió. Nappal a sztómák általában nyitva vannak, és ezeken a pórusokon keresztül a vízgőz kiáramlik a külső térbe. Hogyan alakul ki a szükséges nyomás gradiens, amely a vizet felfelé mozgatja?

Először is, a külső levegő vízgőztenziója általában jóval alacsonyabb, mint az intercellulárisoké. A víz kémia potenciáljának egyenletét felírhatjuk a víz egyensúlyi gőznyomásával is: $\mu_w = \mu_w^\circ + R \times T \times \ln\left(\frac{e_w}{e_w^\circ}\right)$ ahol e_w a víz egyensúlyi gőznyomása a rendszerben és e_w° a tiszta víz egyensúlyi gőznyomása. Ha ebből indulunk ki, akkor a vízpotenciál különbség az intercelluláris és a külső tér között ugyancsak megadható. Tehát a gáz halmazállapotú víz a külső tér felé halad, ahol alacsonyabb a Ψ. Ez tehát elősegíti a víz párolgását a mezofillum sejtek felületéről. (Olyan körülmények között, amikor a belső és külső tér közötti $\Delta\Psi=0$ nincs transpiráció. Ilyen lehet egy kiadós zápor után a nyári melegben, illetve a trópusi esőerdőben.)

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Ez a folyamat azonban nem magyarázza meg, hogy miért megy fel a levelekből elpárolgó vízmennyiség a hajtásba. A magyarázatot a mezofillum sejtek felületén kell keresni. A sejtek sejtfallal körülvett felülete ugyanis a gyökérhez hasonlóan átnedvesedik, a víz itt is telíti az apoplasztot. A **sejtfalak inter-mikrofibrilláris járatai**, amelyek feltöltődnek vízzel **kapillárisként működnek** (**2.6. ábra**). A víz párolgása miatt egyre kisebb és kisebb járatokba, kapillárisokba húzódik vissza és ezért egyre nagyobb a szívóhatásuk. Tekintettel arra, hogy az apoplaszt az egész levélben összefügg, ez a szívó hatás végül eljut a xilém elemekig, amelyek maguk is tekinthetők kapillárisnak. A víz kohéziós sajátságai miatt a kapillárisok hálózatában a vizes oldat, a xilém nedv összefügg a levélben, a szárban és a gyökérben. Ez a kapillárishatás biztosítja a szükséges nyomás gradienst a víz hajtásba történő szállításához. A transpiráló növény xilém pályáiban tehát az **atmoszférikusnál kisebb nyomás** uralkodik. A xilém szállítópályáinak **gyűrűs megvastagodás**a biztosítja, hogy a trachea tagok ellen tudjanak állni ennek a negatív nyomásnak és ne roppanjanak össze.



2.6. ábra A levél belső intercelluláris tereiben a levelek felületén eloszló xilém nedvből képződő folyadékfilm párolog. Vízhiánykor a folyadék a sejtfalak inter-mikrofibrilláris járatainak egyre kisebb átmérőjű kapillárisaiba húzódik vissza

2.1.7.1. A xilém vízpotenciáljának mérése

A vízszállítás fentebb ismertetett kohéziós elmélete szerint a talajtól a növényen át a levegőig tehát vízpotenciál gradiens alakul ki. A magas fák esetében ez a gradiens még arra is elégendő kell legyen, hogy legyőzze a folyadékoszlop gravitációs nyomását, amely egy 100 m magas fa esetében 1 MPa! Valóban lehetséges ez? Kimérhető-e a számítások szerint kialakuló nyomás gradiens? 1965-ben Scholander készített először olyan kísérleti eszközt, amellyel meg lehetett mérni egy levélben vagy egy leveles ágban a nyomást. Ez egy vastag falú tartály **nyomáskamra**, amelybe úgy helyezték el a leveles ágat, hogy a levágott csonkot légmentesen és nyomásbiztosan befogták a nyílásba, míg a levelek a kamrában voltak. A zárt tartályban fokozatosan növelték a nyomást, amíg a vágásfelületen meg nem jelent a xilémnedv. Ennek a nyomásértéknek megfelelő negatív nyomás uralkodik a leveles ág belsejében. A mérést azóta számtalan alkalommal és növényen elvégezték, sőt még a fákra is felmásztak vele, hogy ott helyben mérhessék meg a nyomást egy-egy ágon. A mérések –0,5 és –8 MPa közötti nyomásértékeket eredményeztek. Valóban lehetséges ez?

Azt, hogy a xilémben negatív nyomás jön létre egy régóta ismert jelenség, a **kavitáció** is igazolja. A xilém nedv sok oldott anyagot, még oldott gázt is tartalmaz, ami csökkenti a víz szakítószilárdságát. Alacsony nyomáson a gáztartalom kiválik a folyadékfázisból és ezzel megszakítja a folyadékáramot. Ez rendszerint csupán néhány trachea tagra terjed csupán ki a hatékony védekezési mechanizmusoknak köszönhetően. Számos nyaláb fut párhuzamosan felfelé és sűrűn vannak elágazások A trachea falában nagy számban vannak **udvaros gödörkés megvastagodás**ok, amelyek a pórus záródásával meggátolják a légbuborék oldal irányú terjedését. A kavitáció akár magától is megszűnhet pl. éjszaka a gyökérnyomás hatására.

Ezek azonban közvetett bizonyítékok a kohéziós elméletre. Ezért Zimmermann és munkatársai egy másik módszert alakítottak ki, hogy megmérjék a xilém elemekben a nyomást. A **nyomás szondát** alakították át úgy, hogy a kapillárisba nem szilikonolajat, hanem **gázmentesített viz**et töltöttek és a kapillárist az élő növény xilémjébe szúrták be. A mért nyomás az atmoszférikusról a valós nyomásra csökkent, amikor a kapilláris elérte a xilémet. Ezt a mérést is sokféle növényen és sokféle magasságban végezték el, hogy ellenőrizzék a nyomás gradiens meglétét.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A nyomásértékek azonban – bár szintén negatívak voltak – nem érték el a kohéziós elmélet alapján számított és a nyomás kamra által mért értékeket (a legkisebb érték –1,6 MPa volt) és nem bizonyítják a gradiens meglétét sem.

A különbségek azzal magyarázhatók, hogy más mechanizmusok is befolyásolják a növények vízszállítását a hajtásba. A levél intercellulárisaiban a xilémből kiáramló nedv jelentős ozmotikus nyomással rendelkezik, ráadásul a párologtatás következtében még be is töményedik, így elérheti a 0,5-1 MPa-t is. Ezért lokálisan az ozmotikus potenciál gradiens is elősegíti a víz szállítását. A növények között jelentős különbségek lehetnek a xilém elemekben és a szállított nedv összetételében is. A vízszállítás mechanizmusának teljes körű megismeréséhez még további kísérletekre van szükség más módszerek bevonásával.

2.1.8. A transpiráció

A szabad vízfelület párologtatásával, az evaporációval szemben a növényeken átáramló víz leadását nevezzük **transpirációnak**. A transpiráció során a növények alapvetően a sztómákon át adják le a vizet. A levelek felszínét borító viaszos kutikula réteg ugyanis hidrofób sajátságú és ezért azon csak nagyon kis mértékben képes áthatolni a víz. Mindazonáltal, a vízleadásnak ezt a formáját **kutikuláris transpirációnak** nevezzük.

A transpiráció tehát akkor megy végbe, amikor a sztómák kinyílnak. A sztómák nyitásának és zárásának mechanizmusáról a későbbiekben szólunk. Itt csupán a transpirációra jellemző általános törvényszerűségeket ismertetjük. Miután a sztómanyitásnak és zárásnak napi ritmusa van, így a transpiráció is reggeltől a déli órákig növekedik, majd sötétedésre megszűnik, tehát párhuzamosan változik a fotoszintetikusan aktív fénysugárzással. Nyitott légrések esetén, a vízleadás sebességét befolyásolják a levél anatómiai sajátosságai. A szőrökkel fedett levél, vagy amelyen süllyesztett sztómák találhatók jóval kevésbé transpirál. A transpiráció intenzitását még inkább befolyásolja a levegő hőmérséklete és a páratartalma. A hőmérséklet növekedése fokozza a víz párolgását az intercellulárisokban és a vízgőz diffúzióját. A páratartalom hatásáról már fentebb szóltunk, de a légmozgás növekedése csökkenti a páratartalmat, így növelheti a transpirációt. Ez utóbbi tényezők azonban közvetve befolyásolják a sztómák nyitottságát is. A sztómák nyitása és zárása endogén ritmust követ. A legtöbb növényben a hajnali órákban még akkor is elkezd növekedni a légrés, ha mesterségesen sötétségben tartjuk a növényt. Vannak azonban éjjel nyitó (szkotoaktív) sztómák, és átmeneti típusok is. A sztómák működésére, ezen keresztül a transpirációra ható legfontosabb környezeti tényezők a fény, CO_2 koncentráció és a hőmérséklet. A fény hatására a növényekben számos élettani folyamat aktiválódik. A földre érkező napsugárzásból a kék és a vörös fény hatására nyitnak a sztómák. Ezzel egy időben a fotoszintézis folyamatai is megindulnak és ennek során O_2 képződik és CO_2 kötődik meg. E gázok ugyancsak a sztómákon át cserélődnek ki a környezettel. Megfigyelték, hogy a CO_2 tenzió fokozódásával a sztómák elkezdenek záródni. Ez azt mutatja, hogy a légrés elsősorban a fotoszintézis CO_2 ellátására szolgál, és amennyiben elégséges az intercellulárisokban a tenziója, a légrések szűkülnek, ezzel a csökkentve a növény vízvesztését. Ezen keresztül hat a hőmérséklet is: növekedésével a légzés biokémiai folyamatainak sebessége gyorsabban nő, mint a fotoszintézis sebessége, ezért magasabb hőmérsékleten a CO_2 kompenzációs pont eltolódik. Átmenetileg megnő az intercellulárisok CO_2 tenziója és ezért egyes növényeknél a déli órákban részleges sztómazáródást figyeltek meg. A sztómák zárását azonban előidézheti a vízhiány is. Kiszáradó talajban a növény egyre nehezebben tudja felvenni a vizet és ilyenkor a gyökérben képződő és a xilém nedvvel a hajtásba szállítódó hormon, az abszcizinsav hatására sztómazáródás következik be.

2.2. Anyagfelvétel, anyagszállítás a növényekben

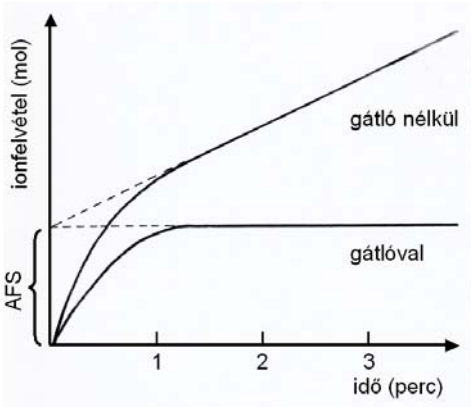
Az anyagfelvétel szempontjából a sejtnek két részét különböztethetjük meg: a **nem ozmotikus térfogat**ot és az **ozmotikus térfogat**ot. A nem ozmotikus térfogat a sejtnek az a része, ahová az ionok és a molekulák passzívan jutnak be, felvételi mechanizmusuk adszorpció, ioncsere és a diffúzió. A nem ozmotikus térfogat a sejtfalra, az apoplasztra terjed ki.

Az ozmotikus térfogat a sejtnek az a része, beleértve a partikulumokat is, amelyeket szemipermeábilis membrán határol és ahová, vagy ahonnan a vizsgált anyag az anyagmozgást szabályozó struktúrán (membránon=barrieren) keresztül mozog. A határoló membránokban elektrogén pumpák (ATP bontó fehérjék, ATPáz fehérjék), szállítófehérjék (karrierek, transzporterek) és csatornafehérjék szabályozzák az anyagmozgást. Ezért ezt az anyagtranszportot **közvetített transzport**nak nevezzük.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.2.1. Anyagtranszport a nem ozmotikus térfogatban

A sejtfal hálózatos, mikrofibrilláris struktúrája által kialakított porózus szerkezetéről már korábban szóltunk. Ezek a különböző átmérőjű pórusok, inter-mikrofibrilláris járatok, a primer sejtfalban cellulóz, hemicellulóz, pektin és glikoprotein molekulák kapcsolódásával jönnek létre. A szekunder sejtfalban már nem található pektin és fehérjekomponens, helyette a pórusokat eltömítő, általában hidrofób sajátságú anyagok rakódnak be: lignin, szuberin, kallóz, kutin. Ezért az anyagfelvételt igazából csak a primer sejtfalban lehet vizsgálni. Ez utóbbinak egyik komponense, a pektin láncaiban **galakturonsav** és **glukuronsav** található (lásd 11.1.), amelyek **karboxilcsoportjain disszociábilis proton**jaik révén fémionokat köthetnek meg. A leggyakrabban megkötött ion a kalcium, amelynek strukturális funkciója is van: két szemben lévő lánc egy Ca^{2+} ion megkötődése révén kalcium-pektátot alkothat, ezzel is stabilizálva a sejtfal szerkezetét. Ugyanakkor ezeken a karboxilcsoportokon más fémionok is megkötődhetnek, onnan ledisszociálhatnak, illetve lecserélődhetnek, ha egy stabilabban kötődő fémion leszorítja őket. Az anionokat a negatív töltések taszítják, így azok nem kötődnek meg a sejtfal oldalláncain. Az apoplasztban tehát az ionok és molekulák töltésüknek megfelelően szabadon diffundálnak, illetve kötődnek meg.



2.7. ábra Az ionok felvétele az apoplasztba

Az anyagfelvétel törvényszerűségeit legtöbbet tápoldatban nevelt növényekkel vizsgálták. Mikor egy növény gyökerét a korábbinál töményebb tápoldatba merítjük, az apoplasztba pillanatszerűen, passzívan történik meg a tápanyagfelvétel. A felvett mennyiség a szövet térfogatszázalékában kifejezhető teret tölt be. Ezt a teret **látszólagos szabad hely**nek (apparent free space, **AFS**) nevezik. Az AFS feltöltődése után természetesen megindul az anyagfelvétel a citoszolba, vagyis az ozmotikus térfogatba is. Ha a felvételt a kálium és a klorid ionok példáján vizsgáljuk akkor a **2.7. ábrán** látható görbét kapjuk. Mind a kálium, mind a klorid ionok felvétele az apoplasztba nagyon gyors és telítődő folyamat, amely után az idő függvényében egy lineárisan növekedő felvételt tapasztalunk a citoszolba. Ha ezt a lineáris szakaszt meghosszabbítjuk az ordinátával való metszéspontjáig, akkor megkapjuk az AFS méretét, amelyet az oda felvett ionok mennyisége (koncentrációja) is jellemez. Ha a kísérlet során gátlószert alkalmazunk, amely meggátolja a kálium és a klorid felvételét a citoszolba, akkor csupán egy telítődő görbét mérhetünk, amelynek lineáris szakasza ugyanott metszi az ordinátát. Az AFS telítődése azonban másképp történik az anionok és töltéssel nem rendelkező anyagok esetében, mint a kationoknál. Előbbiek pillanatszerűen lépnek be az apoplaszt pórusaiba a vízzel együtt és onnan desztillált vízzel kimoshatók maradnak. Ezért az AFS-ből általuk betöltött teret **víz szabad hely**nek nevezzük (**WFS**). A kationok azonban az oldalláncok negatív kötőhelyein kötődnek meg, ezért jellegzetes, úgynevezett **Donnan eloszlás**t mutatnak. Koncentrációjuk, szemben az anionokéval, akár nagyobb is lehet, mint a külső oldatban, ami a kötőhelyek nagy számára utal. Desztillált vizes mosással nem távolíthatók el, de más kationokkal lecserélhetők. Ezért az AFS általuk betöltött részét **Donnan szabd hely**nek (**DFS**) nevezzük. Az AFS tehát a WFS és DFS összege.

2.2.2. Anyagtranszport az ozmotikus térfogatban

2.2.2.1. A transzportfolyamatok kinetikai vizsgálata

Az 1930-as és 40-es években számos kísérletet végeztek a növények anyagfelvételének vizsgálatára. Tanulmányozták az iontranszportban észlelhető kölcsönhatásokat. Megállapították, hogy a K^+, Rb^+, Cs^+ kölcsönösen gátolják egymás felvételét. A H^+ kompetícióban van az alkáli kationokkal alacsony külső koncentráción. A Cl^- és a Br^-

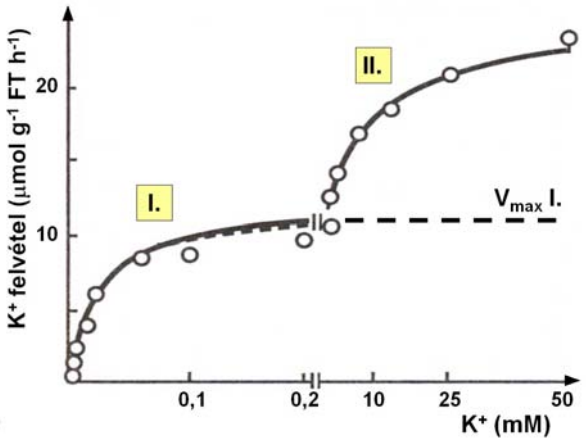
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

között ugyancsak kompetíció mutatható ki. A K^+ és a Na^+ egymásra hatása koncentrációfüggő, alacsony külső koncentráción a K^+ felvétele kedvezményezett a Na^+ ionhoz képest, nagy koncentráción ezt a különbséget nem tudták kimutatni.

Viets (1944) mutatta ki, hogy a tápoldatban jelenlévő Ca^{2+} serkenti mind a kationok, mind pedig az anionok felvételét. A Viets-hatás nagyon gyorsan kialakul. Hasonló hatása van a bór jelenlétének is. A jelenség pontos magyarázatát még ma sem ismerjük. Az ionok és molekulák növényi sejtekbe történő felvételének mechanizmusát azonban mára a molekuláris biológiai vizsgálatok segítségével jól tudjuk magyarázni. Mégis, tanulságos áttekinteni a több évtizednyi kinetikai analízis eredményét.

Először Van den Honert (1933) mutatta ki magasabb rendű növényekből, hogy a felvétel sebessége a külső közeg koncentrációjának emelésével telítődik. Azt azonban, hogy ez a membránokban található szállítófehérjék működésének köszönhető, Epstein mutatta ki 1953-ban. A szállítófehérjék működésére a **Michaelis-Menten kinetika** érvényes, így a szállított anyag megkötése és átjuttatása a membrán túlsó oldalára jellemezhető a **reakció maximális sebességével (V_{max})** és a **sebességi konstanssal (K_m)**.

Az ionfelvétel további tanulmányozása során rájöttek, hogy széles koncentráció tartományban vizsgálva a felvételt, az legalább két folyamatra bontható fel. A kisebb K_m-ű folyamatot I:, a nagyobbat II. folyamatnak (rendszernek) nevezték el. Ezt az ún. **kettős közvetített felvételi kinetiká**t jól példázza a K^+ felvétele (**2.8. ábra**). Már ezekből a vizsgálati eredményekből is kitűnt, hogy az I. és a II. rendszer lényegesen különbözik egymástól. Az I. rendszer specifikus az adott ionra nézve. A 2-es rendszernél az ionok megkülönböztetése kisebb mértékű, az anionfelvételt a könnyen felvehető kationok serkentik és fordítva, a nehezen felvevődők gátolják a másik felvételét. A légzésgátlók (ATP szintézist gátló szerek) és az anaerobiózis alig befolyásolják a II.-es felvételi rendszert.



2.8. ábra A K^+ kettős közvetített felvételi kinetikája árpa gyökerekben

2.2.2.2. A tápanyagok felvételének szabályozása

Általában a növények által nagy mennyiségben felvett ionok, pl. K^+, Ca^{2+} koncentrációja a talajban 10^{-6} –10^{-3} mol dm^{-3}. Ez az a koncentráció intervallum, amelyben az 1-es felvételi rendszer hatékonyan működik. A laboratóriumban is, tápoldatban nevelt növényeknél akkor lehet maximális növekedést elérni, ha az említett ionok K_m értékei az 1-es rendszerre jellemző értékek körül mozognak. Ez egyúttal azt is jelenti, hogy a növekedésnek megfelelően a szövetekben állandó koncentrációjúaknak kell lenniük, tehát az 1-es rendszer V_{max} értéke a növény növekedésével változik. Külső tápanyaghiány esetén a növények szintén az ionfelvétel paramétereinek változásával reagálnak. Árpánál megfigyelték, hogy a káliumhiány először a K_m csökkenését indukálta, majd 3 nap után a V_{max} a kétszeresére növekedett. Híg oldatokban a felvétel sebessége növekszik. Ezek a változások arra utalnak, hogy tápanyag hiány esetén a növény képes **új szállítófehérjék szintézisével** fenntartani az állandó citoplazmatikus koncentrációt.

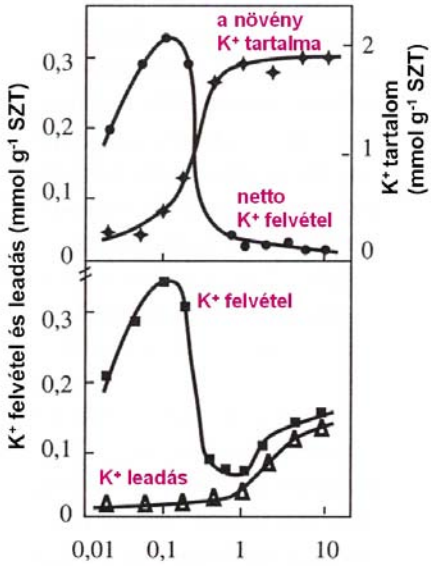
A növények a talajoldatból, tápoldatból felvett ionokból a felesleget a vakuólumba szállítják. A citoplazma ionkoncentrációja az egyes ionokra nézve külön-külön regulálódik és csak nagyon szűk határok között változhat. Ez csak úgy képzelhető el, ha mind a plazmamembrán, mind pedig a tonoplaszt szabályozza az ionszállítást. Hiány esetén a vakuólum játssza a tartalék szerepét. Ez a pufferoló képesség jelentős. A citoplazma állandó K^+ koncentrációja ~150 mM, de a vakuólum K^+ tartalma 5-szörös különbséget is mutathat. A vakuólum kritikus K^+

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

koncentrációja 20 mM, ebből már nem tudja ellátni a citoplazmát káliummal és hiánytünetek léphetnek fel. Az anyagcsere zavartalanságát a citoplazmára korlátozódó **homeosztázis** biztosítja.

A Michaelis-Menten -kinetika csak az alacsony külső koncentrációknál érvényes. A belső koncentráció növekedésével a V_{max} exponenciálisan csökken, a K_m exponenciálisan nő, vagyis nem tekinthetők valódi konstansoknak, mivel a belső ionkoncentrációt az egyenlet nem tartalmazza. A felvétel és a belső ionkoncentráció közötti negatív korrelációt K^+, Cl^-, SO_4^{-2}, PO_4^{-3} és NO_3^- esetében is bizonyították. A K-influx gátlása l5–30 percen belül észlelhető.

Gátlószerek alkalmazásával bebizonyosodott, hogy a felvétel csökkenését nem a karrierek számának vagy aktivitásának megváltozása okozza. Kálium esetében a belső K^+ koncentráció és a K^+ influx közötti összefüggés szigmoid görbével írható le (**2.9. ábra**), amiből arra következtettek, hogy allosztérikus gátlásról van szó. Széles külső koncentráció tartományban a K^+ felvétel egyértelműen négy szakaszra bontható: az első szakaszban (< 10^{-4} mol dm^{-3} koncentrációig) az influx mértéke jelentősen nő, mivel a kötőhelyek még szabadok. A maximális felvétel 10^{-4} mol dm^{-3}-nél mérhető, amikor a belső K^+ tartalom még kicsi. Ezt követően úgynevezett **influxgátlás** történik, a transzporter K^+-kötő helyei telítődnek (**allosztérikus gátlás** lép fel), gyakorlatilag nincs netto K^+ felvétel, csak K^+–K^+ csere mérhető, miközben a gyökér K^+ tartalma már elérte a növény növekedésének megfelelő maximális értékét.



2.9. ábra Intakt búza-csíranövények K^+ (^{86}Rb) felvétele

Az allosztérikus gátlás nem nyújt minden körülmények között általánosítható magyarázatot a felvételi rendszerek szabályozására. A növények sokféle anyagot szállítanak a membránjaikon át, amelyekhez sokféle transzport rendszer alakult ki. Mára e fehérjecsaládokat nagyrészt azonosították, jelenleg a molekuláris biológiai módszerek segítségével folynak a kutatások. Nagy segítséget nyújt az egyes fehérjék működésének, szerepének azonosításában a funkcióhiányos mutáns növények felfedezése. Ezekben egy-egy fehérje expressziója gátolt, ami az általuk betöltött élettani funkció kieséséhez vezet.

2.2.2.3. Elsődleges aktív transzport: pumpák a membránokban

A növények életfolyamataihoz a különböző ionokat, molekulákat általában nem a környezeti koncentrációjukban, hanem attól eltérő, nagyobb, vagy kisebb koncentrációban veszik fel. A növekedéshez szükséges ionokat a növény felhalmozza, míg a szükségtelen anyagokat, ha be is jutnak a sejtbe, igyekszik eltávolítani. E transzportfolyamatok tehát azt jelentik, hogy a membránokban található fehérjék, fehérjekomplexek segítségével a növények az anyagokat kémiai potenciál gradiensükkel (koncentráció gradiensükkel) ellentétes irányban szállítják. Ehhez a folyamathoz energia befektetésére van szükség, amelyet általában az ATP hidrolízise biztosít. A felszabaduló energia révén a fehérjekomplex egy része konformációt változtat és képes a szállított anyagot, a szubsztrátját a magasabb koncentrációjú oldalra juttatni. Az ilyen fehérjéket **pumpák**nak is nevezzük. A leggyakoribb pumpák ionokat

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

szállítanak, pl. a H^+-ATPázok, vagy Ca^{2+}-ATPázok (2.3.5.2.), de vannak közöttük olyanok is, amelyek nagy szerves molekulákat szállítanak, pl. ABC-transzporterek.

A növények és gombák plazmamembránjában található **H^+-ATPáz** fehérjekomplex a citoplazmából H^+ ionokat szállít az apoplasztba, vagyis a külső térbe. Ezzel szabályozza (lúgosítja) a citoplazma pH-ját és savanyítja az apoplasztot, de egyúttal megváltoztatja a membrán két oldala között a töltések eloszlását is, vagyis egyszerre pH- és elektromos potenciál gradienst (**elektrokémiai potenciál gradienst**) is létrehoz. Ez a következő egyenlettel írható fel:

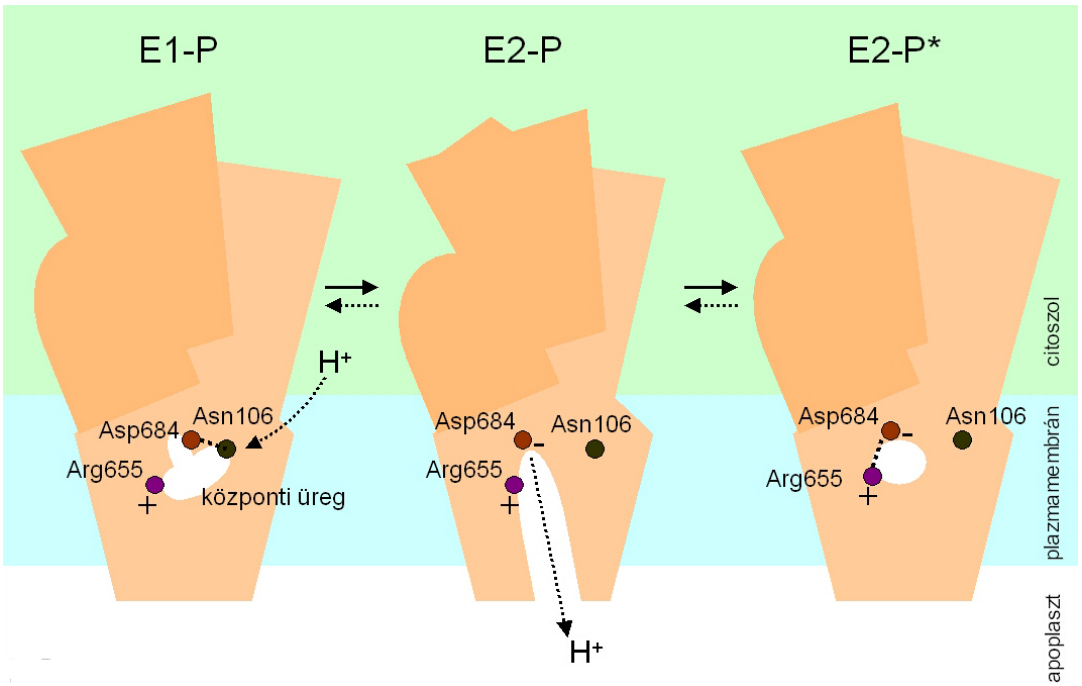
$$\Delta p = \frac{\Delta \mu H^+}{F} = \Delta \Psi - 59 \Delta pH$$

ahol Δp a proton mozgató erő, $\Delta\mu H^+$ a protonok kémiai potenciál gradiense a membrán két oldala között, F a Faraday féle állandó (96485,3383 C mol^{-1}) és ΔΨ a membrán potenciál. A pH különbség elérheti az 1-1,5 értéket, míg a **membrán hiperpolarizálódik**, tehát a membrán potenciál a nyugalmi szintről (~–50 mV) lecsökkenhet akár –130 mV-ra is. (A proton mozgató erő jelentőségét a következő fejezetben mutatjuk be.) Az enzimkomplex valójában egy dimer, amelyben a proton csatornát **transzmembrán helix domének** alkotják. Működését serkenti a K^+, pH optimum értéke 6,5.

A plazmamembrán H^+-ATPáz enzim működése egy **katalitikus ciklus**sal jellemezhető, amelynek során ATP-t hidrolizál és átmenetileg foszforilálódik. Ezért az ilyen típusú enzimeket **P-típusú ATPázok**nak is nevezik. (Ebbe a típusba sorolható még a Ca^{2+}-ATPáz is.) ATP igénye könnyen bizonyítható, ha pl. KCN oldatba helyezzük a növényt. A cianid hatására leáll a terminális oxidáció és az ATP termelés, így a membrán potenciál visszaesik a nyugalmi értékre, de a cianid eltávolítása után lassan újra lecsökken. A foszforilációs lépésnek köszönhetően az enzim **specifikus inhibítor**a az ortovanadát (HVO_4^{2-}), ami egy foszfát analóg (HPO_4^{2-}) és az ATP foszfát kötőhelyén, egy aszparaginsavon kötődik meg.

Az enzimkomplex működését a **2.10. ábra** mutatja be. Első lépésben az enzim (E) foszforilálódik, és a citoplazmatikus oldalon megköt egy protont. Ez utóbbi funkciót az aktív centrumban, egy központi helyzetű, vízzel telt üreg szélén elhelyezkedő Asp_{684} látja el. Így egy átmeneti konformáció alakul ki (E_1-P), amelyben az Asp_{684} és a hozzá közel álló Asn_{106} között hidrogénhíd kötés jön létre. A konformációs mozgás hatására a központi üreg kinyílik a külső tér felé és eközben eltávolodik egymástól az Asp_{684} és az Asn_{106}, megszakítva ezzel a hidrogénkötést (E_2-P állapot). Ekkor a kivezető csatorna pozitív töltést hordozó Arg_{655} aminosava kerül az Asp_{684} közelébe, amelynek hatására Asp_{684}-ről ledisszociál a proton a külső oldatba. Ez a térszerkezet egyben meggátolja az Asp_{684} visszaprotonálódását a savas külső térből. Az enzimkomplex Asp_{684} negatív töltése és az Arg_{655} pozitív töltése neutralizálja egymást, amely egy második foszforilált konformáció átmeneti stabilizálódásához (E_2-P*), majd defoszforilációhoz vezet. Végül visszaáll az enzim kiindulási térszerkezete.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



2.10. ábra A plazmamembrán H^+-ATPáz enzim működése során a protonfelvétel és protonleadás mechanizmusa. (Pedersen et al., 2007 után)

A vakuólumot határoló membránban, a tonoplasztban hasonló funkciójú, de teljesen eltérő szerkezetű enzimek működnek. A **tonoplaszt H^+-ATPáz** a citoplazmatikus oldalról a vakuólumba szállítja a protonokat. Miután az ATP hidrolízise során nem képez foszforilált intermediert, az enzim nem gátolható vanadáttal, mint a plazmamembránban működő H^+-ATPáz. Helyette egy antibiotikummal, a bafilomicinnel, illetve nagy nitrát koncentrációval gátolható. Működését a Cl^- serkenti. Ezek az enzimek minden eukariota endomembránban (ER, Golgi stb.) megtalálhatók. Felépítésében a mitokondriális (vagy a kloroplasztiszban is megtalálható) F-ATPázokra hasonlít. Nagyméretű, összetett, több alegységből álló fehérjekomplexek. Két fő részük az ATP hidrolízisét végző, 8 alegységből álló, perifériális V_1 komplex és a membránba ágyazódó, protoncsatornát alkotó, 6 alegységből álló V_0 komplex, ezért hívják ezeket **V-típusú ATPáz**nak is. Tekintettel arra, hogy szerkezetük ennyire hasonlít az F-ATPázokéra, feltételezik, hogy hasonlóképpen is működnek (lásd. 3.4.6.).

A vakuóláris ATPázok működése során is proton mozgató erő jön létre a citoplazma és a vakuólum között. Egy ATP energiájával 2 protont szállítanak. Ennek eredményeképpen a vakuólum 20-30 mV-tal pozitívabb a citoplazmánál, de a külső térhez képest negatívabb. Miután a vakuólumban jelentősen megnő a protonok koncentrációja, a töltéskiegyenlítés céljából Cl^- és malát^{2-} anionok szállítódnak a vakuólumba, melyet később ismertetendő enzimek katalizálnak.

A vakuólum membránjában egy második proton pumpa is működik, a **tonoplaszt H^+-PPáz** (tonoplaszt proton pirofoszfatáz). Ugyancsak a citoplazmából szállít protonokat a vakuólumba, ezzel hozzájárulva a proton gradiens kialakításához. Kisméretű fehérje, két, membránba süllyedő polipeptid lánc építi fel és működéséhez szervetlen pirofoszfát bontásából nyeri az energiát. A PP_i hidrolízisével azonban kevesebb energia szabadul fel, mint az ATP hidrolízisekor, ami csak egy proton szállításához elegendő, mégis hasonló mértékben járul hozzá a vakuólumba irányuló protontranszporthoz, mint a V-ATPáz, mert a protonokra számított energia-befektetés hasonló. Stimulálja a K^+, gátolja a F^-, Na^+, Ca^{2+}, és pH-optimuma 7,8.

A H^+-PPáz csak növényekben található meg, állati sejtekben, sőt még élesztőben sem mutatták ki. Felmerül a kérdés, hogy miért van szükség két hasonló funkciót betöltő enzimre ugyanott. Az ATP-független proton transzport előnyös lehet például stresszhatás alatt, amikor az ATP szint gyorsan csökken, de a PP_i szint nem változik. A PP_i számos anyagcsereút melléktermék, ezért „olcsó” energiadonor. Citoplazmatikus szintjének szabályozásában is részt vehet a H^+-PPáz.

A növényi sejtben tehát nem csupán egy hanem három különböző enzim biztosítja a citoplazma homeosztatikus egyensúlyát pH=7,0-7,5 szinten. A citoplazmában képződő, protonok a vakuólumba és az apoplasztba is távozhatnak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Miután a vakuólum belső tere a növényi sejt anyagcsere folyamataiban nem vesz részt közvetlenül, csupán „raktárként” funkcionál így ott a pH jelentősen alacsonyabb is lehet, átlagosan pH=5,5. Egyes fajokban a vakóláris nedv pH-ja azonban ettől lényegesen savasabb is lehet: ilyenek pl. a savanyú termésű citrusfélék, vagy az extrém savas környezetben élő *Dunaliella acidophila*, amely utóbbiban a vakuólom pH-ja akár 1 is lehet. A plazmamembrán és a tonoplaszt két oldalán kialakuló elektrokémiai potenciál gradiens azonban nem csupán a pH szabályozásában bír jelentőséggel, hanem egyúttal biztosítja a szabályozott anyagmozgást is.

2.2.2.4. A szállítófehérjék működése

A proton mozgató erő, vagyis az ATP hidrolízisekor felszabaduló energia pH-gradiensben raktározott formája akkor szabadul fel újra, ha egy proton a kémiai potenciálgradiense (vagyis a pH gradiens) mentén visszajut a citoplazmába. Ez az energia elégséges egy negatív töltésű ion saját kémiai potenciálgradiensével szemben proton(ok)al együtt történő szállítására. Ugyanennyi energia szükséges ahhoz is, ha a proton mozgatásakor egy töltés nélküli molekula szállítódik a kémiai potenciálgradiensével szemben, vagy egy pozitív ion mozog a protonnal ellentétes irányba. Természetesen ilyenfajta anyagmozgás a membránok két oldala között szintén csak fehérjemolekulák segédletével történhet, melyek működésük során megkötik a protont és a szállított anyagot, majd konformáció változás után mindkettőt leadják a membrán másik oldalán. Ezután visszaáll az enzim eredeti térszerkezete. Ezek a fehérjék a **kotranszporter**ek, más néven **szállító**k vagy **karrier**ek, amelyek meglétét már a múlt század elején feltételezték a növényi sejtek anyagfelvételének kinetikai vizsgálata alapján. A protonnal ellentétes irányú szállítás esetén **antiporter**nek, azonos irányú szállítás esetén **szimporter**nek hívjuk őket. A sejt szaharóz felvételét például a plazmammembránban található **szaharóz-proton szimporter** katalizálja, míg a Na^+ leadásért a **Na^+-proton antiporter** a felelős. Az ilyen fehérjék **másodlagos aktív transzport**ot valósítanak meg és működésük valójában a pumpák működésén alapul. Szerepük tehát a sejt anyagfelhalmozásában, illetve egyes anyagok eltávolításában van.

2.2.2.5. Az ioncsatornák működése

Abban az esetben, ha a szállított anyag a kémiai potenciálgradiensével megegyező irányba mozog nincs szükség energia befektetésre, tehát úgynevezett **passzív transzport** valósul meg. Az anyagok a membránokon azonban ez esetben is csupán fehérjék segítségével juthatnak át. A legáltalánosabban elterjedt fehérjék, amelyek ilyen transzportot végeznek az **ioncsatorná**k. E fehérjék nyitott állapotban, voltaképpen szabad utat, kaput nyitnak a membránban az ionok koncentráció gradiensükkel megegyező irányban történő diffúziójához. Három típusuk van. A **feszültségfüggő csatornák** működését a membránpotenciál szabályozza. Ilyen módon valójában összefügg a H^+-ATPázok működésével. A feszültségfüggő ioncsatornák akkor nyitnak, illetve zárnak, ha megváltozik a töltéseloszlás a membrán két oldalán, tehát az elektrokémiai potenciál gradiens elektromos komponense a szignál. Vannak, amelyek a hiperpolarizáció hatására nyílnak ki és vannak, amelyek a depolarizáció hatására. Ez utóbbit persze nemcsak a H^+-ATPázok gátlása, hanem a citoplazmába irányuló kation mozgás is kiválthatja. A kálium ionok gyors szállítását a sejtbe például a hiperpolarizáció hatására aktiválódó kálium csatorna (KIRC, K^+ inwardly rectifying channel), míg az ugyancsak gyors leadását a depolarizáció hatására aktiválódó kálium csatorna (KORC, K^+ outwardly rectifying channel) teszi lehetővé. A csatornák felépítésében 6 transzmembrán régió vesz rész, amelyből 4 alkotja a csatornát, 2 pedig a membrán potenciálváltozását érzékeli, pozitív töltésű aminosavak segítségével.

Az ioncsatornák egy másik típusa, a **ligandumfüggő csatorna** annak hatására nyit ki, hogy valamely jelmolekula kapcsolódik hozzá kívülről vagy belülről. A növényi sejtekben az egyik legfontosabb ilyen csatorna a Ca^{2+} csatorna, amelyből azonban többféle létezik a különböző membránokban. Van IP_3 (inozitol-1,4,5-trifoszfát), IP_6, cADPR (ciklikus-ADP-ribóz) és NAADP (nikotinsav adenin dinukleotid foszfát) által aktivált csatorna is. Ezek szerepére a 2.3.5.2. fejezetben térünk ki részletesebben.

Az ioncsatornák harmadik csoportját az úgynevezett nyújtásfüggő, vagy **mechanoszenzitív csatornák** képezik. Jellemző rájuk a kis szelektivitás, a hosszú idejű nyitottság és a jelentős vezetőképesség, vagyis időegység alatt nagy mennyiségű iont szállíthatnak a többi csatornához képest. Ilyen csatornáknak fontos szerepe van az ozmotikusan aktív anyagok mozgatásában, pl. a sztóma zárósejtekben a K^+ mechanoszenzitív csatornák.

Az ioncsatornák általában igen gyors ionmozgást biztosítanak a szállítófehérjékhez képest, mert csak a nyitás és zárás során végeznek konformáció változást, nem pedig minden egyes szállított anyag áthaladásakor. A nyitás sebessége alapján megkülönböztetnek gyorsan aktiválódó, ún. R-típusú és lassan aktiválódó, S-típusú csatornákat is.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.2.2.6. Transzmembrán elektrontranszport fehérjék

A különböző anyagokat szállító fehérjék mellett, azokkal kooperációban, a membránokban NAD/P/H-függő redoxrendszerek funkcionálnak. A növényi sejtek plazmamembránjában működik a **NAD/P/H-reduktáz**, ami az elektront képes átadni az O_2-nek vagy a jelen lévő Fe(III)-nak. A mesterséges elektronakceptorok, amelyek redoxpotenciálja +80 mV-nál kisebb, így a metilénkék, a DCPIP (diklórfenol indofenol) és a $K_3[Fe(CN)_6]$ (FeCN), növényi szövetek jelenlétében redukálódnak. Közülük elektronakceptorként leggyakrabban a $K_3[Fe(CN)_6]$-ot használják, mivel a ferricianid anion impermeábilis és a redukált vas mennyisége pontosan mérhető.

Az elektrontranszport fehérjék közül néhányat már azonosítottak, ilyen például a **NADH-FeCN-reduktáz**. A natív enzim 4 alegységből áll, amelyekhez egy-egy FAD kapcsolódik prosztetikus csoportként, az elektront egy b-tipusú citokrómnak adja át. Elképzelhető, hogy ez a monodehidro aszkorbinsav redukciójában vesz részt (ezért hívják monodehidro aszkorbát reduktáznak, MDHAR is), amely a növény antioxidatív védekező rendszerének része. Egy másik ismert enzim a **vas-reduktáz-oxidáz 2** (FRO2, ferric reductase oxidase 2), más néven vas-kelát-reduktáz, amely a gyökér epidermisz plazmamembránjában lokalizálható és vas-kelátok redukcióját végzi a növények többségében, ha vashiány stressz alakul ki. Ez az enzim is NADH-ból nyeri az elektronokat. A kloroplasztisz belső burkoló membránjában működő FRO7 koenzime a NADPH-t használja a vaskelátok redukciójához. A FRO fehérjecsalád vas transzportban betöltött szerepéről a 2.3.5.4. fejezetben szólunk bővebben.

2.2.2.7. A növényi sejt transzport rendszerei: összegzés

A növényi sejtek anyagfelvételét és –leadását összetett transzport rendszerek szabályozzák. Az anyagfelvétel és –akkumuláció hajtóerejét az elsődleges vagy primer aktív transzport rendszerek biztosítják a membránokban (H^+-ATPázok) a protonok külső (apoplaszt) és belső (organelláris) terekbe való pumpálásával. Az általuk kialakított elektrokémiai potenciálgradiens vagyis a proton mozgató erő biztosítja a különböző ionok és töltés nélküli részecskék potenciál (koncentráció) gradienssel szembeni mozgatásához, vagyis a sejten belüli akkumulációhoz szükséges energiát. Ezt a feladatot, vagyis a másodlagos aktív transzportot, a kotranszporterek (szimport, antiport) végzik. Az elektrokémiai potenciálgradiens elektromos részét, vagyis a protonok által (illetve másodlagosan a felhalmozott ionok által) létrehozott potenciálkülönbséget (a membránok két oldala között) a feszültségfüggő ioncsatornák hasznosítják. Vannak más ioncsatornák is, amelyek működését hozzájuk kapcsolódó ligandumok vagy a membrán feszülése szabályozzák, így függetlenek a membrán potenciáltól. A csatornákon keresztül nincs anyagfelhalmozás, nyitott állapotukban az anyagok passzív diffúzióját biztosítják a membránokon át. Rajtuk kívül léteznek még olyan passzív transzportot katalizáló fehérjék a membránban, amelyek működése nem igényel energiát. Ezek segítségével az anyagok szintén a potenciál (koncentráció) gradiensüknek megfelelő irányba haladhatnak.

Az anyagmozgást biztosító szállítók (kotranszporterek) és a feszültségfüggő csatornák működése a fentiek ellenére sokban hasonlít egymásra. Mindkét típusú fehérjében vannak hidrofób, transzmembrán domének, amelyek igen hasonló felépítésűek. Mindkettő irányított anyagmozgást tesz lehetővé, mindkettő az elektrokémiai potenciál gradienstől függ. Eltérnek viszont abban, hogy a szállítók csak az egy irányban szállíthatnak anyagot, mert csak egyik oldalon van szubsztrát kötőhelyük, míg a csatornákon, nyitott állapotban bármely irányban mozoghat a szállított anyag. A szállítóknál az aktivációs energia nagy, a csatornáknál kicsi. A szállítók 100-10 000 iont szállítanak másodpercenként, míg a csatornák 1-10 milliót.

A kétféle típusú transzport rendszer létezését valójában már sok évtizeddel ezelőtt kimutatták a kinetikai vizsgálatok: A szállítók a kis külső koncentrációtartományban működő, **nagy affinitású transzport rendszerek**et (I. rendszer), míg a csatornák a nagy külső koncentrációtartományban működő, **kis affinitású transzport rendszer**eket (II. rendszer) alkotják. Egyes ionok növények által hasznosítható koncentrációja a talajban változhat, pl. szárazság esetén jelentősen csökkenhet. Ilyenkor a nagy affinitású rendszer aktiválódik a hatékonyabb felvétel érdekében (pl. Fe, 2.3.5.4.).

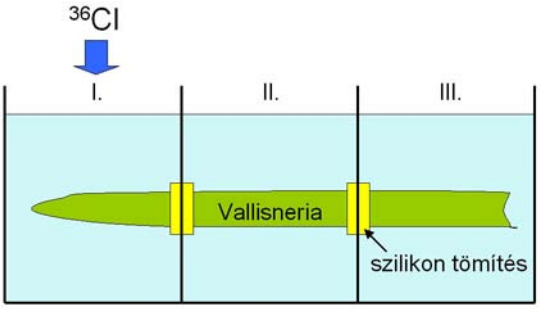
2.2.3. Hosszú távú anyagszállítás

A többsejtű növényeknél (pl. fonalas algák) bármelyik sejt felveheti az anyagokat a környezetéből, de a sejtek át is tudják adni egymásnak azokat. A magasabb szerveződési szinten álló növényekben azonban már egyre specializáltabb sejtek és szövetek találhatók, amelyek funkciója nem csupán az anyagok felvétele, hanem rövidebb-hosszabb távolságra történő szállítása a gyökér és a hajtás között.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.2.3.1. Anyagszállítás a szimplasztban

Akárcsak a víz, a benne oldott anyagok is szállítódhatnak a növényekben az apoplasztban vagy a szimplasztban. A szimplaszt úton történő szállítást a **plazmodezmá**k biztosítják a sejtek között. A parenchimatikus sejteket igen sok, akár 1000-10 000 plazmodezma is összekötheti a mellettük levő sejtekkel. Ezek a parányi citoplazmatikus alagutak mindössze 30-60 nm átmérőjűek. Vannak azonban a floém szállítószövet rendszerében 1-14 µm átmérőjűek is. A plazmodezmák két sejt közös plazmamembránjával borított pórusok, amelyeken át azonban az endoplazmatikus retikulum is összeköttetésben áll, membránja a dezmotubulusal köti össze a két sejtet. Régebben azt gondolták, hogy ezek merev, állandóan nyitott pórusok, de az újabb vizsgálatok szerint a membránokhoz kapcsolódó kontraktilis (aktin és miozin) fehérje filamentumok lehetőséget nyújtanak a pórusméret szabályozására. Külső körülmények hatására és a sejt anyagcseréjétől függően a plazmodezmák struktúrája megváltozhat, lehetnek nyitott és zárt állapotban.



2.11. ábra A szimplasztban történő anyagszállítás vizsgálatához használt kísérleti eszköz vázlata. (A római számok egymástól vízhatlan tömítéssel elkülöníthető kamrákat jelölnek, amelyek között anyagmozgás csak a *Vallisneria* levelekben történhet.)

A plazmodezmákon át a szimplasztban történő transzportot *Vallisneria* levelek felhasználásával demonstrálták. A növény hosszú levelét egy üvegkádban egymástól elkülöníthető, vízzel feltöltött kamrákba zárták, így az egyes kamrákban külön-külön tanulmányozható volt a felvétel és a szállítás mechanizmusa (**2.11. ábra**). Amikor az első kamrába radioaktív ^{36}Cl-ot tartalmazó oldatot helyeztek, a II. és a III. kamrában lévő levélrészekben is megjelennek a klorid-ionok. A szállítás sebessége 2–4,4 cm h^{-1} volt. Az apoplasztban nem történt szállítás, mivel a II. és a III. kamrában a külső oldatba klorid-ion nem adódott le, holott apoplaszt-transzport esetén ennek jelentősnek kellene lennie. A II. kamrába adott gátlóanyag (ATP szintézis gátló) a transzlokációt nem gátolta az I-es és a II-es kamra között, de gátolta a II-es kamrában a vakuólumokba történő felvételt. Az I-es kamrába adott gátlóanyag hatására a nem lehetett kimutatni a II. és III. kamrában a ^{36}Cl-ot, tehát megakadályozta a felvételt és a transzlokációt is. Mikor az I-es kamra radioaktív, a II-es kamra ugyanolyan koncentrációban inaktív kloridot kapott, akkor ^{36}Cl nem szállítódott át. Mindebből az következik, hogy a transzlokáció mozgatója a szimplasztban, a plazmodezmákon át, az anyagfelhalmozódás a sejtekben és a koncentrációgradiens kialakulása a sejtek között, mechanizmusa pedig diffúzió. A szimplasztban ellenirányú transzport is történhet. Amikor az I-es kamrát ^{36}Cl-tal a II-es kamrát ^{14}C-aszparaginnal töltötték fel, akkor a klorid a II-es kamrába, az aszparagin az I-es kamrába szállítódott.

Ezek a törvényszerűségek a növények bármely sejtje között érvényesülnek, ahol szimplazmatikus összekötetés van. Vannak azonban fontos, említésre méltó példák a szimplaszt transzport jelentőségére. A C4-es növények fotoszintézisénél, amikor szerves savak és aminosavak szállítódnak a hüvelyparenchima- és a mezofillumsejtek között, a kétféle szövet között a szállítást plazmodezmák nagy száma segíti elő (3.6.7. fejezet).

2.2.3.2. Radiális irányú transzlokáció a gyökérben

A talajoldatból az anyagok felvevődhetnek a legkülső sejtrétegbe a **rizodermisz**be és sejtjeinek nyúlványaiba, a **gyökérszőr**ökbe is. Ugyanakkor a bizonyos gyökérzónákban a külső oldat bejuthat a **kéregsejtek** közötti apoplasztba is, így a felvétel a kortikális sejtekben is megtörténhet. A radiális irányú transzport a gyökérben az **endodermisz**ig apoplaszt és szimpalszt úton is történhet. A zárvatermő növényekben ennek gátat szabhat a rizodermisz alatti sejtréteg, az **exodermisz**. Ez az endodermiszhez hasonlóan vastagodott falú sejtekből álló hengerpalást a gyökérben, amelyben ugyancsak kimutatható a Caspary-csík, ami meggátolja a radiális irányú apoplaszt transzportot. Az exodermisz álhat azonos méretű, illetve hosszú és rövid sejtekből, az utóbbiak áteresztik az anyagokat. Orchideáknál

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

transzfer sejtek alakultak ki az exodermiszben, amelyek nagy mértékű szabályozott anyagmozgást biztosítanak a transzport szimplaszt útra való terelésével.

A kéregsejtek általában izodiametrikus, parenchimatikus sejtek, amelyekben úgy nő a vakuólum mérete, tehát a raktározó kapacitás, ahogy távolodunk a gyökércsúcstól, vagyis ahogy egyre idősebb sejtrétegekben vizsgálódunk. Szerepük, a raktározás, a transzlokáció és a gyökércsúcsba, illetve a xilémbe való anyagtovábbítás. Az endodermisz, amint az 2.1.6. fejezetben írtuk, gátat szab a radiális irányú víz- és anyagszállításnak az apoplasztban. A gyökércsúcstól való távolság, tehát sejtek életkorának növekedésével azonban – az exodermiszhez hasonlóan – érési folyamaton megy át. A gyökércsúcshoz közeli zóna még áteresztő, ahogy távolodunk, a szuberin berakódás miatt, azonban egyre inkább hidrofóbbá válik és csupán a szimplasztikus anyagszállítást teszi lehetővé. A vizsgálatok szerint a kétféle hidrofób struktúra (exo- és endodermisz) fő funkciója nem az anyagok kirekesztése, hanem pont fordítva, a gyökér által felvett víz és a benne oldott anyagok megtartása. A gyökér legbelső sejtrétege a központi henger, sztéle parenchimája és a benne található szállítónyalábok (**xilémparenchima sejtek** és a **xilém**). A xilém sejtjei ugyancsak érési folyamaton mennek át. A gyökérszőrös, felvételi zónában még élő sejtekből áll, ahogy azonban felfelé haladunk a sejtek fala a lignin berakódástól hidrofóbbá válik, a harántfalak lebomlanak és a citoplazmát felváltja a szabályozott összetételű, számos fontos tápelemet tartalmazó xilém nedv, amely a hajtásba szállítódik.

2.2.3.3. Akkumuláció, és szállítás a hajtásba

A hajtásba irányuló anyagszállítás kutatásának központi kérdése az volt, hogy melyik sejtréteg a felelős az anyagok akkumulációjáért. Természetesen, bizonyos mértékig minden gyökérsejt felhalmozza az anyagokat a saját vakuólumában, de a hajtásba folyamatos, szabályozott anyagszállítás történik, amely nincs korrelációban az egyes sejtekben történő ionakkumulációval. A gyökér ugyanis nem csupán a saját sejtjeiben halmozza fel a felvett anyagokat, hanem mint valamiféle mirigy, folyamatosan szállítja azokat a hajtásba, tehát ez túlmutat a sejtszintű akkumuláción. Melyik sejtréteg lehet a felelős az extra – saját szükségleten és kapacitáson túli – akkumulációért?

A hajtásba történő szállítás szabályozott mivoltát jól példázza, hogy a tápoldatba merülő gyökér a K^+ és Na^+ ionok között különbséget tesz: előbbi nagy mennyiségben szállítódik, míg az utóbbit a gyökér visszatartja. Az izotópjelöléssel végzett kutatások azt mutatták, hogy a gyökér a tápoldatból felvett ionokat közvetlenül szállítja a hajtásba, amit az is indokol, hogy a vakuólumokba történő felvétel lassú. A gyökér egyes sejtrétegeinek vizsgálatakor kimutatták, hogy az egyes anyagok (pl. K^+, illetve Cl^-) kémiai potenciálja egységesen magasabb a rizodermiszben, exodermiszben, kortexben és az endodermiszben, sőt a xilém parenchima sejtekben is a külső oldathoz képest. Csupán a xilém elemekben csökken le valamelyest, de magasabb marad a külső oldathoz mérten. Megállapították, hogy a xilémet körbevevő xilém parenchima sejtek végzik a hajtásba irányuló anyagtranszport szabályozását, vagyis itt történik az **akkumuláció**. Ennek mechanizmusát az elmúlt két évtizedben sikerült felderíteni.

A xilémbe történő anyagszállítás szabályozásának mechanizmusát a kálium példáján mutatjuk be, mert ezt tanulmányozták a legintenzívebben. A xilémparenchima sejtek membránjában is nagy számban találhatunk H^+-ATPáz enzimeket, amelyek protonokat szállítanak az apoplasztba, ami itt a xilém belső terét is magában foglalja. A létrejövő elektrokémai potenciál gradiens, illetve membrán hiperpolarizáció hatására kinyílnak a hiperpolarizációra aktiválódó, káliumot szállító csatornák (KIRC, 2.2.2.5.). Ezeken át azonban nem a xilém felé áramlanak a K^+ ionok, hanem pont fordítva, a xilémparenchima sejtekbe jutnak a xilémből. Ez a folyamat csak akkor mehet végbe, ha a xilém nedv mozgása a hajtás felé igen lassú, ami zárt sztómák mellett, tehát általában éjszaka lehetséges. Ilyenkor a xilém parenchima sejtek tehát visszaveszik a xilémben felhalmozódott kálium felesleget és a vakuólumaikban tárolják azt. A hajnali órákban azonban a sztómák nyílni kezdenek, és a növekvő párologtatás hatására felgyorsul a xilém nedv áramlása a levelek felé. Az apoplasztból a protonok elszállítódnak a hajtás felé, így a xilém parenchima sejtek membránja depolarizálódik. Ennek hatására záródnak a káliumot befelé szállító csatornák és nyílnak a káliumot kifelé szállító csatornák (KORC, 2.2.2.5.). Ez a csatorna csupán a K^+ ionokat engedi át, a Na^+ ionokat nem, így tartja vissza a gyökér a nátriumot. A K^+ koncentráció növekedésével egyúttal a xilém nedv ozmotikus potenciálja is lecsökken, ami elősegíti a vízcsatornákon keresztül a víz áramlását a xilémbe. A vizes oldatban megindul a K^+ szállítása a hajtásba. A xilém nedvbe a KORC-on kívül természetesen több más csatorna is szállít ionokat, pl. a **NORC** (**nem specifikus kation csatorna**, nonspecific outwardly rectifying channel), illetve többféle **anioncsatorna**. A transpiráció fokozódása a xilém nedv hígulását, lassulása a töményedését idézi elő.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.2.3.4. Az asszimilátumok transzlokációja

A transzport rendszerek nem csupán a talajból felvett anyagokat szállítják a gyökérből a hajtásba, hanem a fotoszintézis során termelődő szervesanyagoknak is el kell jutniuk az egész növényben azokra a helyekre, ahol növekedés, sejtosztódás (hajtáscsúcs, gyökércsúcs, merisztémák), illetve raktározás (gumók, termések, magok stb.) folyik. ^{14}C izotóppal jelölt CO_2 molekulák segítségével végigjárhatjuk azt a kalandos utat, amit a képződő szénhidrátok megtesznek a felhasználódásukig. Ennek első lépése a CO_2 fixációja (3.6. fejezet) a kloroplasztiszban, majd a képződő cukormolekulák a citoplazmába szállítódnak a mezofillum sejtekben, ahol hexózokká, majd diszaharidokká, illetve más cukorszármazékokká alakulnak át. Ezután sejtről sejtre haladnak a plazmodezmákon át, amíg egy floém kísérősejthez nem érnek. A kísérősejtből szállítódnak a rostasejtbe, majd a floém szállítópályán át jutnak a célállomásra, ahol az előbbihez hasonló, sejtről sejtre való haladással jutnak a felhasználás helyére. A szállítás iránya tehát a **képződés helyé**től a **felhasználódás helyé**re mutat.

A floém nedvben, akárcsak a xilémben, szintén vízben oldott állapotban szállítódnak az anyagok. Szárazanyag tartalma 10-25%, amelynek általában 90%-a cukor. Ez persze nagy mértékben változik a külső körülményektől függően, napi és évszakos ritmussal. A szállítódó cukor leggyakrabban és legnagyobb mennyiségben **szaharóz**. Szállítódhatnak még a szaharóz α-galaktozidjai, a **raffinóz, a sztachióz és a verbaszkóz** (amelyekben 1, 2, ill. 3 galaktóz kapcsolódik a szaharózhoz).Gyakori a cukoralkoholok, **mannitol, szorbitol** szállítása is. Ezeken túl azonban még számos különféle anyag szállítódik, hiszen a floém biztosítja a növényekben az anyagok cirkulációját, újrahasznosítását. Ilyen anyagok az aminosavak és más nitrogén vegyületek, szerves savak, hormonok, enzimek és szervetlen ionok, mely utóbbiak közül kiemelendő a K^+. Általában elmondható, hogy minden szállítódhat benne, ami nem károsítja. Mai ismereteink szerint Ca^{2+} ionok és a redukáló cukrok (pl. glükóz, fruktóz stb.) tehát nem szállítódnak.

Annak tanulmányozására, hogy melyik levélből merre történik a szállítás radiokatív foszfor izotóppal történő jelölést alkalmaztak. Kimutatták, hogy a felső levelekből főleg a hajtáscsúcs irányába, az alsókból a gyökér felé, a középső levelekből pedig mindkét irányba szállítódnak az anyagok. Általános szabály, hogy mindig a képződéshez legközelebbi felhasználódási hely felé haladnak az anyagok. Ilyen felhasználódási helyet képeznek még a fejlődő levelek is. A primordiumokból kifejlődő levél eleinte csak magának termel szerves anyagokat, hiszen előbb fel kell építenie saját sejtjeit, szöveteit. Ilyenkor nemcsak a xilémből, hanem a legközelebbi már fejlett levelekből is kap nyersanyagokat. Ennek mértéke a levéllemez kifejlődésének kb. 25%-áig növekszik, majd csökken, és az 50%-os fejlettségi szinten megszűnik. A fejlett, idős levek már egyáltalán nem vesznek fel anyagokat. A fejlődő levélből az anyagok exportja ugyancsak kb. 25%-os fejlettségnél indul meg. Lombhullás előtt a mobilizálható anyagok egy része elszállítódik, amíg a szállítópályák be nem záródnak teljesen. A szerves anyagok importját és exportját a levelekben floreszcenciás és izotópos vizsgálatokkal igazolták.

2.2.3.5. A cukorszállítás kezdete

A kloroplasztiszt két membrán borítja. A belső borító membránban három, jellegében eltérő transzportrendszer működik. Közülük legjobban ismert a **foszfát-transzlokátor** (TPT), amely a membrán összes fehérjéinek 10–15%-át alkotja. Triózfoszfátokat (gliceraldehid-3-foszfát, dihidroxiacetonfoszfát), 3-foszfoglicerin-savat transzportál a citoszólba és anorganikus foszfátot a kloroplasztiszba. C_3-as növényeknél a 2-es szénatomon foszforilált intermedierekeket (2-foszfoglicerát és foszfoenolpiruvát) a foszfát-transzlokátor csak elenyésző mértékben képes mozgatni. A triózfoszfát-foszfát transzport tipikus passzív, kicserélődési reakció, **antiport**.

A TPT két egyforma alegységből álló fehérje, amelyet egyenként 6–6 hidrofób, α-helikális szegmens és az őket összekötő hidrofil hurok épít fel. A membrán két oldalán a kötőhelyek különbözőek. Ezt az aszimmetriát specifikus inhibitorokkal igazolni lehetett. A TPT szubsztrátaffinitása a citoszól oldalán □5-szöröse a sztrómaoldal affinitásának. A TPT 1:1 arányú antiportot hoz létre, ha a membrán két oldalán a szubsztrátok koncentrációja alacsony. Ha azonban koncentrációjuk megnő, akkor valószínű, hogy a foszfát-transzlokátor uniport anionszállítóvá alakul át és a transzport mértéke egy nagyságrenddel is növekedhet.

A TPT működését a megvilágítás szabályozza. Sötétben a triózfoszfátok, a 3-foszfoglicerinsav és a foszfát K_m és V_{max} értéke közel azonos, megvilágítás hatására azonban a 3-foszfoglicerinsav transzportja korlátozott. Ennek oka, hogy a fotoszintetikus elektrontranszport lánc működése során (lásd 3.5.) a tilakoidmembránokon a lumen irányába H^+-leadás történik és a sztróma lúgosodik

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A C_4-es növényeknél a mezofillumsejtek és hüvelyparenchima-sejtek kloroplasztiszainál és a CAM növényeknél különböző transzport folyamatokat találunk. A mezofillumsejtekben a sztrómában foszfoenolpiruvát képződik és transzlokálódik a citoszólba, ahol oxálecetsavvá alakul és a foszfát visszajut a sztrómába. A *Crassulaceae* családba tartozó növényeknél nappal ugyancsak foszfoenolpiruvát képződik a kloroplasztiszban, ami a citoszólba szállítódik és 3-foszfoglicerinsavvá alakul. Ez utóbbi jut vissza a plasztiszba és felhasználódik a keményítő bioszintéziséhez. Éjszaka viszont triózfoszfátok keletkeznek és szállítódnak a citoszólba foszfát antiporttal. Tehát mind a C_4-es, mind a CAM növényeknél olyan foszfáttranszportert találunk, ami 2-es C-atomon foszforilált molekulát képes szállítani.

2.2.3.6. A szerves anyagok belépése a floémbe

A rostacsövekbe vagy rostaelemekbe a cukrok és cukorszármazékok kétféle mechanizmussal léphetnek be a floémbe: apoplaszt, vagy szimplaszt úton. Az apoplaszt út gátolható, mert az anyagszállítás a protonmozgató erőn alapul. A mezofillum sejtekből érkező cukormolekulák (pl. szaharóz, mannitol, szorbitol) a kísérő sejtekbe nem juthatnak át, mert a plazmodezmás összeköttetés megszakad. Ezért leadódnak az apoplasztba. A kísérősejt itt úgynevezett **transzfer sejt**té alakult, sejtfalában invaginációk jönnek létre, ami megnöveli a plazmamembrán felületét. A membránban számos transzportfehérje található: H^+-ATPázok, és szaharóz-proton szimporterek. Ezek működése biztosítja a cukormolekulák szabályozott felvételét a transzfer sejtbe, ahonnan továbbhaladásukat a rostaelemek felé viszont a transzfersejt és a rostaelem közötti plazmodezmák teszik lehetővé.

A szimplaszt úton történő cukortranszport nem gátolható, ami arra utal, hogy a képződés helyétől a rostaelemekig végig plazmodezmákon keresztül szállítódnak az anyagok. A kísérősejt, amely a rostelem betöltését szabályozza, itt **intermedier sejt**té specializálódott. Ezekbe a sejtekbe a szaharóz és más cukormolekulák, pl. a galaktóz koncentráció gradiensüknek megfelelően diffúzióval érkeznek a plazmodezmákon. Az intermedier sejtekben azonban oligoszaharidokká (raffinózzá, sztachiózzá, verbaszkózzá) asszimilálódnak, amelyek nagyobb méretük miatt nem jutnak vissza a mezofillum sejtekbe. A szaharóz és a galaktóz elhasználódása viszont fenntartja a koncentráció gradiensüket. Az intermedier sejtek és a rostaelemek között nagyobb átmérőjű plazmodezmák teszik lehetővé az oligoszaharidok továbbhaladását.

2.2.3.7. A szerves anyagok kilépése a floémből

Az anyagok kilépését a floémből a szövetek növekedése, vagyis ennek során a szállított anyagok felhasználódása határozza meg. A floemből történő anyagleadás módját elsősorban a növényi részek felépítése szabja meg. A hajtás- és gyökércsúcsok, a növekvő levelek és szárrészek, a raktározószövetek és a gyümölcsök, illetve az embrionális szövetek (mag) eltérő szöveti felépítésűek, amihez a rostaelemekből való anyagleadás alkalmazkodik. Itt is lehetőség van szimplaszt-, illetve apoplaszt úton történő anyagleadásra, sőt ezek kombinációjára. A gyökércsúcsban például a protofloem lenyúlik a merisztematikus sejtekig, amelyekkel plazmodezmák kötik össze. Vegetatív raktározószövetekben pl. burgonyagumóban és a gyümölcsfejlődés korai szakaszában a parenchimasejtekben is szimplazmatikus az út. Az érő gyümölcsnél azonban, a cukor a floem-parenchimába még plazmodezmákon át jut, de a raktározó parenchimasejtekbe már a sejtfalakon keresztül.

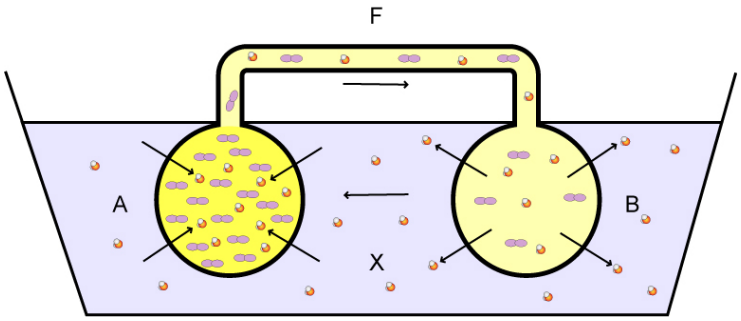
A szállítás mechanizmusában tehát, a betöltéshez hasonlóan, a diffúzió, illetve különböző transzport rendszerek bírnak jelentőséggel. Az apoplasztba leadódó szaharózt a felhasználó sejtek membránjában is működő szaharóz-proton szimporter szállítja a citoplazmába. A sejtfalban azonban számos enzim működik, köztük a **savas invertáz**ok, amelyek hidrolizálják a szaharózt glükózzá és fruktózzá. Ezek a cukormolekulák szintén rendelkeznek specifikus proton szimporterrel. A citoplazmába felvett cukrok végül raktározódhatnak a vakuólumban, amiloplasztiszokban vagy lebontó folyamatokba léphetnek be.

2.2.3.8. A szerves anyagok transzlokációja a floémben

Az eddigiekben ismertettük, hogy hogyan lépnek be a floémbe az anyagok a képződés helyén, illetve hogyan lépnek ki onnan a felhasználás helyén. De hogyan szállítódnak el a levélből, gyakran több méteres távolságra? Mi mozgatja a meglehetősen tömény cukoroldatot a rostasejtekben, illetve rostaelemekben? Erre számos magyarázat született a kutatások során. Itt a ma általánosan elfogadott elméletet ismertetjük, bár a többi hipotézisben is szerepelnek olyan elemek, amelyek kétségtelenül befolyásolják a szállítást. Ilyenek pl. a protoplazma áramlás, vagy a P proteinek.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A floém nedv hosszú távon tömegáramlással szállítódik, amelyet – mint már tudjuk – a nyomásgradiens hajt. A floémben uralkodó pozitív nyomást egy igen egyszerű megfigyelés is igazolhatja. A fiatal hajtásokat, levélnyeleket ellepő levéltetvek szipókájukat egyetlen rostacsőbe szúrják. Potrohuk végén néha megfigyelhető egy átlátszó cseppecske, a mézharmat. Ez az a floémből származó cukros váladék, ami miatt esetenként a hangyák járőröznek a tetvek felett és megóvják őket a ragadozóktól. A szipókát átvágva ugyanúgy megjelenik a nedv és akár napokig is szivároghat. Ez mutatja, hogy a floémben pozitív nyomás uralkodik, azonban nem igazolja a nyomásgradiens meglétét. Ezt Ernst Münch (1930) egy ozmotikus modellrendszerrel bizonyította.



2.12. ábra A floémben történő anyagszállítást demonstráló ozmotikus rendszer vázlata. A: szemipermeábilis falú, nem táguló tartály ozmotikummal feltöltve – „a képződés helye”, B: szemipermeábilis falú, nem táguló tartály – „a felhasználás helye”, F: összekötő cső – „a floém”, X: vízzel telt kád – „a xilém”

A modellben egy vízzel telt kádba két nem táguló falú, de féligáteresztő membránnal borított edény merül, amelyek közül egyikben vizet, a másikban tömény cukoroldatot helyeztek el és amelyeket egy üvegcső köt össze (**2.12. ábra**). Az A jelű, tömény cukoroldatot tartalmazó, edénybe víz lép be a vízpotenciál gradiensét követve. Az edényben nőni kezd a hidrosztatikus nyomás, amely az üvegcsőben felfelé hajtja a (közben lassan híguló) cukoroldatot. A B edénybe érve a felhígult cukoroldatban az ozmotikus potenciál kisebb, mint az A-ban, a nyomás viszont nő, ezért víz préselődik ki az edényből a kádba. Ez a folyamat addig tart, amíg a két edényben ki nem egyenlítődik a cukorkoncentráció.

A növényekben a képződés helyén a floémbe betöltött cukrok hatására csökken az ozmotikus potenciál, így a rostaelemekbe víz áramlik, így növekszik a turgornyomás. A nyomás növekedés hatására a nedv megindul a rostcsövekben. A felhasználás helyén ellentétes folyamat játszódik le. A cukor lebomlik, kompartmentalizálódik vagy ozmotikusan inaktív makromolekulák (pl. keményítő) szintetizálódnak belőle. Ennek hatására nő az ozmotikus potenciál, és a floém vizet ad le. Így a felhasználás helyén csökken a turgornyomás. A rostacsövekben tehát **turgornyomás gradiens** jön létre, ami **tömegáramlás**sal hajtja a nedvet. Az apoplasztba leadott, illetve az onnan felvett víz nyomása a xilémben egyenlítődik ki.

A fenti szállítási mechanizmus akkor működik a valóságban, ha a turgorgradiens elégséges ahhoz, hogy a nedvet a floémben fellépő ellenállással szemben mozgassa. Vajon elegendő hajtóerőt biztosít ez a tömény cukoroldat mozgatására, figyelembe véve, hogy számos zárvatermőnél és különösen a nyitvatermők rostasejtjeinél a mozgással szemben jelentős az ellenállás? A rostalemezeken lévő plazmodezmák átmérője a számítások szerint nem minden esetben igazolja a fentieket, ezért elképzelhető, hogy más mechanizmusok is segítik a szállítást.

2.3. A növények ásványi táplálkozása

Az életfolyamatokhoz a szénen, hidrogénen és oxigénen kívül szükség van még nitrogénre, kénre, foszforra, kalciumra, káliumra és magnéziumra, de kisebb mennyiségben a periódusos rendszer számos más elemére is. Ezeket a növények a talajból veszik fel, és beépítik szervezetükbe. A növekedéshez és az anyagcseréhez szükséges ásványi elemekkel való ellátás és az elemek felvétele táplálkozásként definiálható. A növényi szervezet számára szükséges ásványi elemek tehát **tápanyagok**. A zöld növények számára nélkülözhetetlen tápanyagok kizárólag szervetlen anyagok. Ebből a szempontból alapvetően különböznek más, nem autotróf élőlényektől, amelyek kiegészítésül még szerves vegyületeket is igényelnek tápanyagként. Az ionok formájában rendelkezésre álló tápanyagokat a növényi gyökerek a talajban növekedve, a vízfelvétel folyamatához kapcsoltan felveszik, akkumulálják és elszállítják a hajtásba. Az ionok felvételét elősegítik a gyökerekkel szimbiózisban élő mikorrhiza gombák (lásd 12.2. fejezet) pillangósvirágú növények nitrogénfelvételében a nitrogéngyűjtő baktériumok (lásd

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

12.1.2. fejezet) játszanak szerepet. A talajokban a növények által felvehető tápelemek különböző koncentrációban fordulnak elő, és a növények között is jelentős különbségek vannak a tápelemigény tekintetében.

2.3.1. A talaj, mint tápanyagforrás

A talaj tápanyag-raktározó képessége az agyagásványok és a humuszanyagok azon tulajdonságán alapszik, hogy felületükön az ionok megkötődhetnek. A talajban, ahol mind a szerves, mind a szervetlen alkotórészek egy része mérete alapján a kolloidokhoz tartozik, a tápanyagok három különböző formában fordulhatnak elő. Lehetnek erősen kötve, a növények számára közvetlenül nem felvehetően, a talajkolloidok felületén adszorbeálva (főként kationok), a növények számára közvetve felvehetően, de a kimosódástól védve és a talajoldatban könnyen kimosható, szabad ionként, könnyen felvehető formában (főként anionok).

A növények által felvett ásványi elemek, ionok a talajoldatból származnak, amely általában nagyon híg. Szélsőségesen száraz időjárási viszonyok esetén a talaj víztartalma azonban csökken, a talajoldat betöményedik.

A talaj kémhatása a talaj savasságának vagy lúgosságának mértéke, melyet a talajoldatban levő H^+, vagy OH^- ionok relatív mennyisége határoz meg. A talajoldatban levő protonok egyensúlyban vannak azokkal, amelyeket a talajrészecskék (agyagásványok) adszorbeálnak. Ez a két forrás együttesen adja a talaj össz-savasságát. A talajoldat H^+ ion tartalma, összehasonlítva a talajrészecskék felületén adszorbeálódott mennyiséggel, viszonylag csekély. A talajoldat kémhatása normális körülmények között nem változik jelentősen, ugyanis a protonok talajrészecskék felületén történő ad- és deszorpciója egyensúlyban van. Ezt nevezzük a talajok pufferoló képességének, ami a legtöbb jó szerkezetű talajnál igen jelentős.

Mind a túl magas – 9 feletti – mind a túl alacsony – 4 alatti – talaj-pH toxikus a növény, elsősorban a gyökér számára. Ezen a két értéken belül a proton koncentráció közvetlen hatása a legtöbb növényre nem számottevő. A talaj pH-ja viszont befolyásolja a tápelemek oldhatóságát és – a transzport fehérjék működésén keresztül – közvetetten a felvehetőségét is.

2.3.2. A rizoszféra

Az élő gyökér által befolyásolt talajzóna a **rizoszféra**, amely mind méretében, mind összetételében nagyon változatos lehet. A növények tápanyagfelvételét nemcsak a talajban lejátszódó fizikai és kémiai folyamatok befolyásolják, hanem maguk a növények, pontosabban gyökérzetük tulajdonságai, morfológiája és szerkezete is. Jól ismert az egyszikűek bojtos gyökérzete és a kétszikűek fő- és mellékgyökérzete közötti különbség. Az egyes növényfajokra az is jellemző, hogy gyökereik milyen távolságra és mélységre hatolnak le a talajba.

A gyökerek hossztengelye mentén megkülönböztetjük a felvételi zónát, amelyre az epidermiszsejtekből differenciálódó gyökérszőrök sokasága jellemző. Itt történik a víz- és tápanyagfelvétel túlnyomó része, ami nem meglepő, hiszen a gyökérszőrök által kialakított összfelület egyes növényeknél (fáknál) akár négyzetkilométeres nagyságrendű is lehet. A gyökérsüveg táplálkozástani szempontból fontos funkciója a nyálkaanyag kiválasztása, amely védi a gyökércsúcsot a kiszáradástól, elősegíti a talaj-mikroorganizmusokkal való kölcsönhatást, illetve a tápanyagok bejutását a gyökérbe. A gyökér egyes szöveteinek szerepéről az a 2.2.3.2. fejezetben szóltunk.

A gyökerek tápanyagfelvételében jelentős szerepe van az apoplasztnak. Az itt található negatív töltésű funkciós csoportokon megkötődött két- és háromszorosan pozitív töltésű fémionok egyrészt egy raktározott, potenciális tápanyagforrást jelentenek a növény számára, másrészt folyamatos kicserélődésben vannak az apoplasztot és a sejtközötti járatokat átjáró talajoldattal. Az adszorpció és a szimplasztba történő felvétel folyamatosan távolítja el a gyökér környezetéből az ionokat. Ennek eredményeképpen a gyökér közvetlen közelében tápanyaghiányos zóna jön létre, és a talajoldatban diffúzió indul meg a gyökér felé. Ezt a folyamatot különböző tényezők, így a talaj víztartalma, szerkezete stb. befolyásolják és ezért hatással vannak a tápanyagfelvételre is. A talajban kialakulhatnak tömegáramlások is a folyadékfázisban, amelyek jelentősen hozzájárulhatnak a növények tápanyagellátásához, ugyanakkor előidézhetik a kimosódásukat is.

A gyökér növekedése során újabb és újabb talajzónákkal érintkezik, amelynek következtében új tápanyagforrásokhoz juthat (intercepció). Ez a folyamat különösen olyan elemeknél lehet jelentős, amelyek diffúziója nem számottevő (pl. Mg), illetve a semleges vagy lúgos pH-n a talajrészecskék felületén kicsapódnak (pl. Fe). A tápanyagutánpótlás tehát történhet diffúzióval, tömegáramlással és intercepcióval.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A gyökerekben számos anyag képződik és adódik le, amely befolyásolja a tápanyagok oldhatóságát és felvételét. Ilyenek a H^+ és HCO_3^-, a szerves savak, foszfatázok, aminosavak, cukrok, fenolok és nyálkaanyagok. A sejtekből kijutó kis moltömegű vegyületek előbb az apoplasztba, majd az epidermiszsejtfalakon át a talajba kerülnek.

A H^+ és HCO_3^- a légzésből és egyéb dekarboxilációs reakciókból, valamint a kation–anion felvétel kiegyensúlyozatlanságából származnak és az ugyancsak leadott szerves savakkal együtt jelentősen befolyásolhatják a rizoszféra pH-ját. Alacsonyabb pH-n számos fém sója válik oldhatóbbá.

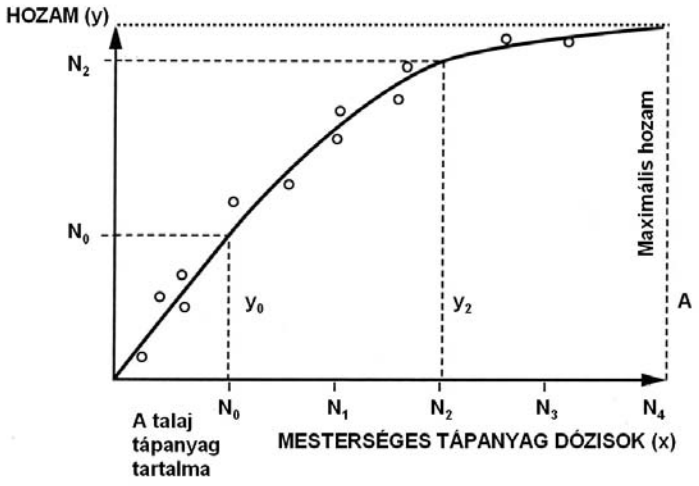
A kibocsátott szerves savak közül kiváltképp a citromsav szerepe fontos, ugyanis különösen hatékonyan szabadítja fel a foszfort meszes talajokban, de hasonlóan hathat a vasra, mangánra és cinkre is. Ez részben annak köszönhető, hogy savanyít, másrészt komplexálja a kétértékű kationokat és eltávolítja a foszfátionokat a vas- és az alumínium-hidroxid felületéről.

A tápanyagok hiánya általában serkenti a különböző anyagok leadását a gyökérből. A kétszikű növényekben és a gabonafélék kivételével az egyszikűekben is általában vashiány hatására nő a proton- és citrátleadás, és egyes esetekben a fenolszármazékok, pl. ribofalvin, leadás. Utóbbi anyagok képesek redukálni a vasat a rizoszférában. A gabonafélék fitosziderofórokat adnak le, és a Fe(III)-mal stabil kelátkomplexet képeznek. E vegyületek képesek a rezet, mangánt és cinket is mobilizálni a talajból, a fémek felvételében betöltött szerepük azonban még kétséges.

A foszforhiány a foszfatázok leadását serkenti különböző növények gyökeréből, míg a hüvelyeseknél szerves savak szabadulnak fel. A káliumhiány serkenti a cukrok és szerves savak leadását a kukorica gyökeréből. A cinkhiány hatására pedig elsősorban aminosavak, cukrok, fenoloidok és K^+ adódik le.

2.3.3. Az ásványi anyagok felvétele és a hozam

A növény növekedése és fejlődése számos külső (környezeti tényezők) és belső (genetikailag rögzített tulajdonságok) tényezőtől függ. Először Liebig (1803–1873) ismerte fel, hogy a növények fejlődésének ütemét, **terméshozam**át a rendelkezésre álló tápelemek közül az szabja meg, amely legkisebb mennyiségben (minimumban) van jelen a szükségeshez képest. Ennek az elemnek a mennyiségét növelve nő a terméshozam mindaddig, amíg egy másik elem nem kerül relatív minimumba, megakadályozva a terméshozam további növekedését. A **Liebig-féle minimumtörvény**t sokáig, mint az ásványi táplálkozás alapvető jelentőségű megállapítását fogadták el. Szigorú értelemben azonban – az elemek bonyolult kölcsönhatásai miatt – a törvény mégsem érvényes, ugyanis bebizonyosodott, hogy pl. ha a P minimumban van, a termés szempontjából mégsem lesz közömbös az sem, hogy a talajban a K vagy a N milyen mennyiségben van jelen.



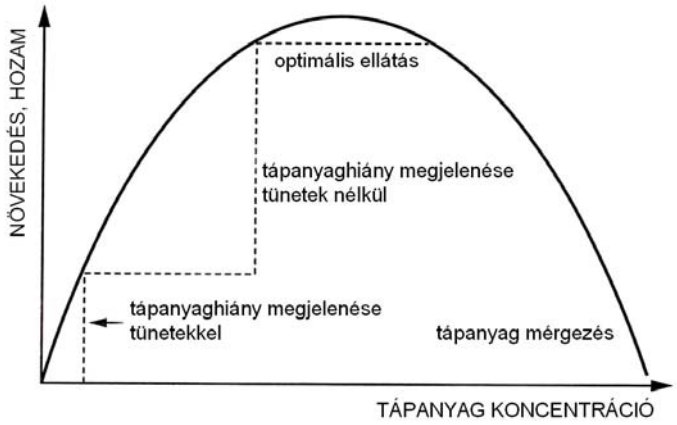
2.13. ábra A tápanyag(nitrogén)-adagolás hatása a hozamra

Általánosan érvényes szabály, hogy növekvő mennyiségű tápanyag adagolása csökkenő mértékben emeli a terméshozamot. A maximális hozam elérése után további tápanyag-adagolás a terméshozamot már nem növeli (**2.13. ábra**). A növekedés és a hozam összefüggését először Mitscherlich írta le:

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

$$\frac{dy}{dx} = c(A - y)$$

ahol dy a terméshozam-növekedés dx tápanyag adagolására, A a maximális terméshozam, c arányossági konstans, y az adott hozam x tápanyagmennyiség adagolásakor. Azt a tápanyagmennyiséget, ami a maximális hozam 50%-át adja, Baule-értéknek nevezik egy német matematikus után, aki a Mitscherlich-formulát %-os értékre dolgozta át.



2.14. ábra A növények növekedése, terméshozama és tápanyagtartalma közötti összefüggés

A növény tápanyagtartalma és növekedése, terméshozama közötti összefüggés nem lineáris, hanem tipikus optimumgörbét ír le (**2.14. ábra**). Tápanyaghiány esetén a növény ásványi anyagtartalma nagyon csekély. Ha növeljük a hiányban levő elem koncentrációját a szöveti tartalom csak lassan, a terméshozam azonban nagymértékben emelkedik, végül a terméshozam eléri a maximumot, a határkoncentrációt. Ez az a tápanyagmennyiség, amelynek jelen kell lennie a maximális hozam eléréséhez. A koncentráció további növelése jelentősen nem hat a termésre. A tápelemek túl nagy koncentrációban toxikusan hatnak, ami a termés csökkenéséhez, extrém esetben a növény pusztulásához vezethet.

2.3.4. A tápelemek csoportosítása

A bioszférában jelenlévő 90 stabil, illetve a növényi szövetekben kimutatható 40–50 elem közül csak néhány tekinthető nélkülözhetetlennek, vagyis **esszenciális**nak. Ahhoz, hogy egy elemet esszenciálisnak tekintsünk, három feltételnek kell teljesülnie. 1. Hiánya esetén a növény hiánytüneteket mutat és elpusztul mielőtt életciklusát befejezné. 2. Funkciója nem helyettesíthető valamely más elemmel. 3. Közvetlenül részt kell vennie az anyagcserében, vagyis pl. egy enzim komponense kell legyen, ill. egy enzimreakcióhoz szükséges.

Egyes tápelemekből a növény igénye és tartalma nagyobb, míg másokból lényegesen kisebb. A növényi szövet például ezerszer is több nitrogént tartalmazhat, mint cinket. Ebből adódott az a jórészt gyakorlatban meghonosodott osztályozás, amely a növényben található tápelemek mennyiségét veszi alapul. Azokat az elemeket, amelyekből a növények normális növekedésükhöz és fejlődésükhöz nagyobb mennyiséget igényelnek **makroelemek**nek nevezzük, szemben a **mikroelemek**kel, amelyekből a szükséglet viszonylag csekély (2.1. táblázat). Ezen meghatározások figyelembevételével a növények számára – az alapvető **organogén elemek** (C, H, O) mellett – a következő ásványi elemek tekinthetők nélkülözhetetlennek: N, P, S, K, Ca, Mg (makroelemek), Fe, B, Mn, Zn, Mo, Cu, Cl és Ni (mikroelemek). A Na, Si, Se és a Co nélkülözhetetlensége általában nem bizonyított, ugyanakkor tudjuk, hogy egyes növényekre kedvező hatásúak (**esetenként hasznos elemek**).

2.1. táblázat Az autotróf növények esszenciális elemszükséglete

Elem	A felvétel formája	Koncentráció a növényben (µ mol/g száraztömeg)	Optimális koncentráció a tápoldatban, (mol/l)
	MAKROELEMEK		

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Nitrogén	NO_3^-, NH_4^+	1071	$3,75*10^{-3}$
Kálium	K^+	256	$1,5*10^{-3}$
Kalcium	Ca^{2+}	125	$1,25*10^{-3}$
Foszfor	$H_2PO_4^-$	65	$0,25*10^{-3}$
Magnézium	Mg^{2+}	82	$0,5*10^{-3}$
Kén	SO_4^{2-}	31	$0,5*10^{-3}$
	MIKROELEMEK		
Molibdén	MoO_4^{2-}	0,001	$0,12*10^{-6}$
Réz	Cu^+, Cu^{2+}	0,09	$0,08*10^{-6}$
Cink	Zn^{2+}	0,3	$0,19*10^{-6}$
Mangán	Mn^{2+}	0,9	$4,6*10^{-6}$
Vas	Fe^{3+}	1,8	10^{-5}
Bór	BO_3^{2-}, $B_4O_7^{2-}$	1,8	$11,6*10^{-6}$
Klór	Cl^-	2,8	$9,2*10^{-6}$

Ez a csoportosítás azonban nem mindig állja meg a helyét, mert bizonyos növények, termőhelytől függően, tartalmazhatnak például ugyanannyi vagy akár több vasat, illetve mangánt, mint ként vagy magnéziumot. Jelentős eltérések lehetnek elemtartalom tekintetében a növények egyes szövetei között is. A mikroelemtartalom gyakran lényegesen meghaladja a fiziológiailag szükséges mennyiséget. Erre jó példa a Mn, amely szintén viszonylag magas koncentrációban fordul elő sok növényben, jóllehet tudjuk, hogy a fotoszintézisben játszott specifikus szerepéhez, a víz fotolíziséhez kis mennyiség is elegendő. Ez a példa azt is jól szemlélteti, hogy az egyes növényi szervek tápanyagtartalma önmagában nem ad elegendő támpontot, hogy a fiziológiai és biokémiai folyamatok számára optimálisan mennyi tápelemre van szükség. A növények magas koncentrációban tartalmazhatnak olyan ásványi elemeket is, amelyek nem tápanyagok, sőt toxikusak pl. Al, Cd, Cr, Hg, Pb (**toxikus elemek**).

Fiziológiai szempontból tehát nehéz a növényi tápanyagokat makro- vagy mikroelemekre felosztani, azon az alapon, hogy milyen koncentrációban fordulnak elő a szövetekben. A tápelemek osztályozása a biokémiai viselkedésük és fiziológiai funkciójuk alapján megalapozottabb. Ebből a szempontból a növényi tápanyagokat – beleértve a már organogén elemeket is – 4 csoportra lehet felosztani.

Az első csoportot az organogén elemek, valamint a nitrogén és a kén alkotják. Ezeket a növények a talajoldatból H_2O, HCO_3^-, NO_3^-, NH_4^+ és SO_4^{2-}, illetve a levegőből CO_2 formában veszik fel. Ezek az elemek a szerves anyagok fő összetevői, amelyek asszimilációja karboxilációs és oxidoredukciós folyamatok során történik. A második csoport a P, a B és Si alkotják. Felvételük foszfátokból, borátokból, szilikátokból, ill. bórsavból történik. Közös jellemzőjük, hogy alkoholos csoportokkal képeznek észtereket. A K, Na, Mg, Ca, Mn és a Cl képezi a harmadik csoportot. Ezeket a növények a talajoldatból szabad ionokként veszik fel. Szerepük szerteágazó: részt vesznek az ozmotikus potenciál felépítésében, a töltéskiegyenlítésben és enzimek strukturális és funkcionális alkotórészei. A negyedik csoportban a Fe, Cu, Zn, Mo található, ezeket ionok és kelátok formájában veszik fel a növények. Elsősorban prosztetikus csoportokat képeznek, amelyek az elektrontranszportot teszik lehetővé.

2.3.4.1. Makroelemek

2.3.4.1.1. Nitrogén

A növények által legnagyobb mennyiségben felvett tápelem a nitrogén, az összes anion, ill. kation mintegy 70%-át, a növény szárazanyagának 2-5%-át teszi ki. Ezért jelentős szerepe van ozmotikumként a vízfelvételben (2.3.5.1). Fontos strukturális elem, alkotórésze az aminosavaknak, nukleinsavaknak, klorofilloknak, speciális növényi anyagoknak. Felvétele történhet NO_3^-, NH_4^+ és szerves formában is (karbamid). Hiányában gátolt a növekedés, (főként az alsó) levelek klorotikusak, a túltáplálás szivacsos szövetek képződéséhez, gabonaféléknél, pl. szármegdőléshez vezet.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.3.4.1.2. Kén

Főként SO_4^{2-} formában vevődik fel. A növényekben redukálódik, majd a szerves kötésekbe épül be. Alkotóeleme a ciszteinnek és metioninnak. A fehérjék, enzimek szerkezeti felépítésében és gyakran funkciós (szulfhidril, -SH) csoportként is fontos szerepet tölt be. Azért érzékenyek ezek az enzimek egyes toxikus nehézfémekre, (pl. Cd és Hg), mert hozzákötődve gátolják működésüket. Ez ellen véd a citoplazmában, illetve a kloroplasztiszban nagy mennyiségben található antioxidáns molekula, az ugyancsak szulfhidril csoportot tartalmazó glutation, (amely glutaminsavból, ciszteinből és glicinből épül fel). A glutation-aszkorbinsav ciklus a szabadgyökök eliminálásában nélkülönözhetetlen. Nehézfém stressz hatására a glutationból a fitokelatin szintáz enzim $[glutamil\text{-}cisztein]_{n2\text{-}11}$-glicin összetételű fitokelatinokat épít fel, amelyek, megkötik (komplexálják) a fémeket, és ezáltal védik az enzimeket, illetve részt vesznek a vakuólumba szállításukban.

2.3.4.1.3. Foszfor

Felvett formáját befolyásolja a pH: savas körülmények között $H_2PO_4^-$, semleges és lúgos közegből HPO_4^{2-} forma a kedvezményezett. Gyorsan beépül szerves kötésekbe, majd nukleinsavak, foszfolipidek szintetizálódnak belőle. Ugyanakkor szervetlen foszfát csoportként (P_i) is fontos szerepet tölt be: az ATP molekulában makroerg kötéseket hoz létre, míg egyes enzimek szabályozásában a foszforilációnak van jelentősége.

2.3.4.1.4. Kálium

A második legnagyobb mennyiségben szükséges elem. K^+ formában veszik fel a növények. Igen mobilis, megkötődik az apoplaszt negatív töltésein, de könnyen lecserélődik, és gyorsan szállítódik a xilémben és a floémben is. Mozgása befolyásolja a vízpotenciál viszonyokat és a membránpotenciált. A kálium számos enzimet aktivál, befolyásolja a hidratációt, és fontos szerepet tölt be a jeltovábbításban (akciós potenciálok által közvetített ingerek). Számos anyagcsere- és élettani folyamat alapul a kielégítő kálium ellátáson.

2.3.4.1.5. Kalcium

A Ca^{2+} Nagy mennyiségben halmozódik fel, ill. kötődik meg a sejtfalakban, amelyben strukturális funkciója is van (Ca-pektát). A citoplazmában a Ca^{2+} koncentrációja alacsony, de a sejtorganellumokban jelentős lehet. A kis citoplazmatikus koncentráció elengedhetetlen néhány kulcsenzim működéséhez, kivédi a P_i kicsapódását, csökkenti a kötőhelyekért való kompetíciót a Mg-ionokkal és lehetővé teszi a kalcium mint másodlagos hírvivő működését (2.3.5.2.), de a membránpoteciálhoz kötött szignalizációban is fontos (akciós potenciálok).

2.3.4.1.6. Magnézium

A magnéziumot Mg^{2+} formájában oldható sóiból veszik fel a növények. Az összes Mg kb. 5–10%-a a levelekben a sejtfalakhoz kötötten, pektátként található, 6–20% a klorofill molekulák központi atomja, a maradék 60–90% pedig vízzel extrahálható. A magnézium mobilitása fontos, mert enzimreakciók egész sorát serkenti (pl. kulcsenzimekét is, mint a RuBP-karboxiláz-oxigenáz). Az ATP- és PPázok szubsztrátja például nem a szabad ATP hanem a Mg.ATP. A Mg^{2+} stabil komplexet képez az ATP^{4-} ionnal pH 6 felett. A komplexben átalakul a molekula konformációja és elektroneloszlása, ezáltal a molekulaszerkezetben „feszülés” jön létre. Így a komplex reaktívabb lesz, és konformációja megfelel az enzimek aktív centrumának. A magnézium esszenciális funkciója még a riboszómák összekapcsolása.

2.3.4.2. Mikroelemek

2.3.4.2.1. Vas

A vas az egyik legfontosabb elem a növényi anyagcsere szempontjából. Felvételével külön fejezetben foglalkozunk (2.3.5.4.). A fiziológiai funkciói közül ki kell emelni, hogy a vas szükséges a klorofillszintézishez, így elégtelen vasellátás esetén csökken a növény klorofill tartalma és klorotikus lesz (a vashiány mindig a fiatal leveleken jelentkezik elsőként). Számos enzim prosztetikus csoportjában (citokrómok, citokrómoxidáz, peroxidáz, kataláz stb.) vasat találunk. Ezen kívül funkcionális alkotórésze a vas-kén fehérjéknek és a ferredoxinnak. Központi jelentősége annak tulajdonítható, hogy könnyen komplexálódik és részt vehet oxidációs és redukciós folyamatokban.

Nagy mennyiségű vas raktározódhat a plasztiszokban, mint fitoferritin komplex. A ferritin több alegységből álló fehérjemolekula, amely ásványi magot zár közre. Az ásványi mag tartalmazhat foszfátot, ez esetben a raktározott

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

vassal együtt amorf struktúrát képez. Foszfát hiányában a vas kristályos formát vesz fel. A ferritin normális vasellátás esetén nem mutatható ki a vegetatív szervekből, hanem az érő magban halmozódik fel.

2.3.4.2.2. Bór

Bórsav, vagy borát anion formájában vevődik fel proton szimporttal, de bórsavat áteresztő csatornát is azonosítottak már. Hasonlóan a Ca-hoz serkenti, a kationok és az anionok felvételét is. A növények érzékenyek a bór hiányra, mivel a sejtfal szerkezetének kialakulásához elengedhetetlen a pektin egyik alkotó részének, a rhamnogalakturonán II-nek a dimerré alakulása. A két molekulát, két apiozil maradékon keresztül, borát-észter kötés kapcsolja össze. Bór hiányban a sejtfal laza szerkezetűvé válik, a növény nem növekszik, végül el is pusztul.

2.3.4.2.3. Mangán

Nem képez stabil komplexeket, így szabad ionos formában vevődhet fel és szállítódhat a növényben. Legnagyobb mennyiségben a kloroplasztiszokban található, mivel a II. fotokémiai rendszer vízbontó enzimkomplexének alkotó része. Számos más enzim működésében is fontos szerepet játszik (pl. foszfoenol-piruvát-karboxiláz).

2.3.4.2.4. Cink

A Zn számos enzimnek strukturális eleme, más enzimek működését viszont csak aktiválja (pl. karboxipeptidáz, szénsav-anhidráz). Azokban, amelyek felépítésben részt vesz, általában négy cisztein koordinálja és így egy igen stabil tetraéderes szerkezet jön létre (pl. alkohol-dehidrogenáz, DNS-replikációban és génexpresszióban részt vevő fehérjék). A szuperoxid-dizmutáz (SOD) Cu-Zn tartalmú enzim, amelyben a Zn strukturális elem. Zinkhiány esetén a SOD aktivitása csökken, ami a szuperoxidanion-gyök képződés növekedéséhez vezet. Ez pedig a membránlipidek peroxidációját és az indolecetsav oxidatív lebomlását, végső soron klorózist és növekedésgátlást okoz.

2.3.4.2.5. Molibdén

Molibdenát (MoO_4^{2-}) anion formában veszik fel a növények. Különböző enzimek prosztetikus csoportját alkotja. Számos, a növények szempontjából is fontos bakteriális enzim tartalmaz molibdént (pl. nitrogenáz enzim, lásd 6.1.1.1.). A nitrogénasszimiláció kulcsenzime, a nitrát-reduktáz szintén tartalmazza. Ennek prosztetikus csoportja egy komplex vegyület, a **Mo-kofaktor**, alapvetően egy pterin, amelyhez négy alkil oldallánc csatlakozik (molibdopterin, Mo-pterin). Ezek tartalmazzák a molibdént koordináló ditiolén csoportot és egy terminális foszfátésztert (6.2. ábra). Bebizonyosodott, hogy ez az egész élővilágra nézve hasonló felépítésű, ősi vegyület.

2.3.4.2.6. Réz

A réz a növényben aminosavakkal (pl. hisztidin) és nikociánaminnal komplexet képezhet és feltehetően ebben a formában is szállítódik. A Cu fizikai jelentősége azon a tulajdonságán alapul, hogy hajlamos stabil komplexek képzésére és részt vehet oxidoredukciós folyamatokban. Nagy affinitással kötődik különböző funkciós csoportokhoz, pl. szulfhidril-, karboxil- és fenolos csoportokhoz. A fehérjék három nagy csoportját különböztetik meg, amelyekhez réz kapcsolódik. 1. A kék proteinek az elektrontranszferben vesznek részt és nincs oxidáz-aktivitásuk, (pl. plasztocianin). 2. A nem kék proteineknek peroxidáz-aktivitása van, és monofenolokat oxidálnak difenolokká, (pl. szuperoxid-dizmutáz, diamin-oxidáz és a fenol-oxidázok). 3. A többszörös réztartalmú fehérjék, amelyek legalább 4 rézatomot tartalmaznak molekulánként és oxidáz-aktivitásuk van, (pl. aszkorbinsav-oxidáz, difenol-oxidáz). A citokróm-oxidáz kevert Cu-Fe-protein, mely a terminális oxidációban vesz részt. Az enzimek alkotórészeként a réz tehát nélkülözhetetlen a légzésben és a fotoszintézisben is, mégis a növények által felvett mennyiség rendkívül csekély. Feleslegben mérgező, növekedésgátlást okoz.

2.3.4.2.7. Klór

Fontos gyorsan mozgó ozmotikum. Az ozmoregulációban betöltött szerepe az aktuális koncentrációjától függ. Magasabb (több mM) koncentrációnál fő ozmotikumként szerepel a K mellett. Alacsonyabb koncentrációnál azonban lokálisan tölt be hasonló szerepet (pl. a gázcserenyílások zárósejtjei vagy a mimóza pulvinusza). A Cl stimulálja a tonoplasztban található H^+-ATPázt. A Cl másik fontos funkciója a fotoszintetikus vízbontásban van. A vízbontó komplex fehérjéinek strukturális komponense és részt vesz az oxidált állapotú Mn stabilizálásában is.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.3.4.2.8. Nikkel

A Ni könnyen mozog a növényben és legnagyobb része a levelekben található. Már gyökérben szerves komplexek keletkeznek (valószínűleg Ni-citrát vagy Ni-malát) és ezek szállítódnak a hajtásba, ahol részben átalakulnak, de a nikkel legnagyobb részben oldható formában marad. A Ni a karbamid asszimilációját katalizáló ureáz enzim alkotó része.

2.3.4.3. Esetenként hasznos elemek

A Na^+ mind méretében, mind kémiai viselkedésében nagyon hasonlít a káliumra. A magasabbrendű növények mégis nagy szelektivitással veszik fel a káliumot a nátriumhoz képest, és ez még inkább érvényes a hajtásba történő transzlokációra. Egyes növényfajok, családok számára azonban a nátrium is esszenciális tápelem. Tűrőképességük alapján a növényeket nátrofil (pl. répa) és nátrofób (pl. kukorica) csoportra oszthatjuk. A talajokban felhalmozódó, illetve tengerparti ökoszisztémákban jelenlévő magas nátrium koncentrációhoz az ott élő ún. sótűrő növények adaptálódtak. E növények a vízfelvételüket úgy biztosítják a hiperozmotikus környezetben, hogy a nátriumot felveszik és ozmotikumként a vízpotenciál csökkentését azzal érik el. Nátriumszegény környezetben nem is élnek meg.

A Si esszenciális bizonyos egysejtű szervezetekben, pl. a *Diatóma*kban. A magasabbrendű növények közül pl. a mezei zsurló vagy a rizs Si hiányában jellegzetes hiánytüneteket mutat: gátlódik a növekedés, a levelek nekrotikussá válnak, a növény hervad. A csalán (*Urtica dioica*) szilícium hiányában nem képes szilárd levélszőröket növeszteni, így azok nem töltik be funkciójukat. Mindez azonban nem elegendő az esszencialitáshoz, mert végső soron a növények virágzásig, terméshozásig nőnek.

A magasabbrendű növények számára a Co nem esszenciális, de növekedést serkentő hatását több esetben is leírták. Jelenléte azonban nélkülözhetetlen a hüvelyesek gyökerében élő szimbionta *Rhizobium*ok számára. E mikroorganizmusok három enzimmel (metionin-szintáz, ribonukleotid-reduktáz, metilmalonil-koenzim-A-mutáz) is rendelkeznek, melyek működéséhez B_{12}-vitamin, vagyis koenzim kobalamin szükséges. Ennek fémkomponense Co^{3+}, amely egy korrinváz közepén helyezkedik el négy N-atom által koordináltan. Az enzimek aktivitása Co hatására nő, párhuzamosan a nodulációval és a N_2 fixációval.

2.3.4.4. Közömbös és mérgező elemek

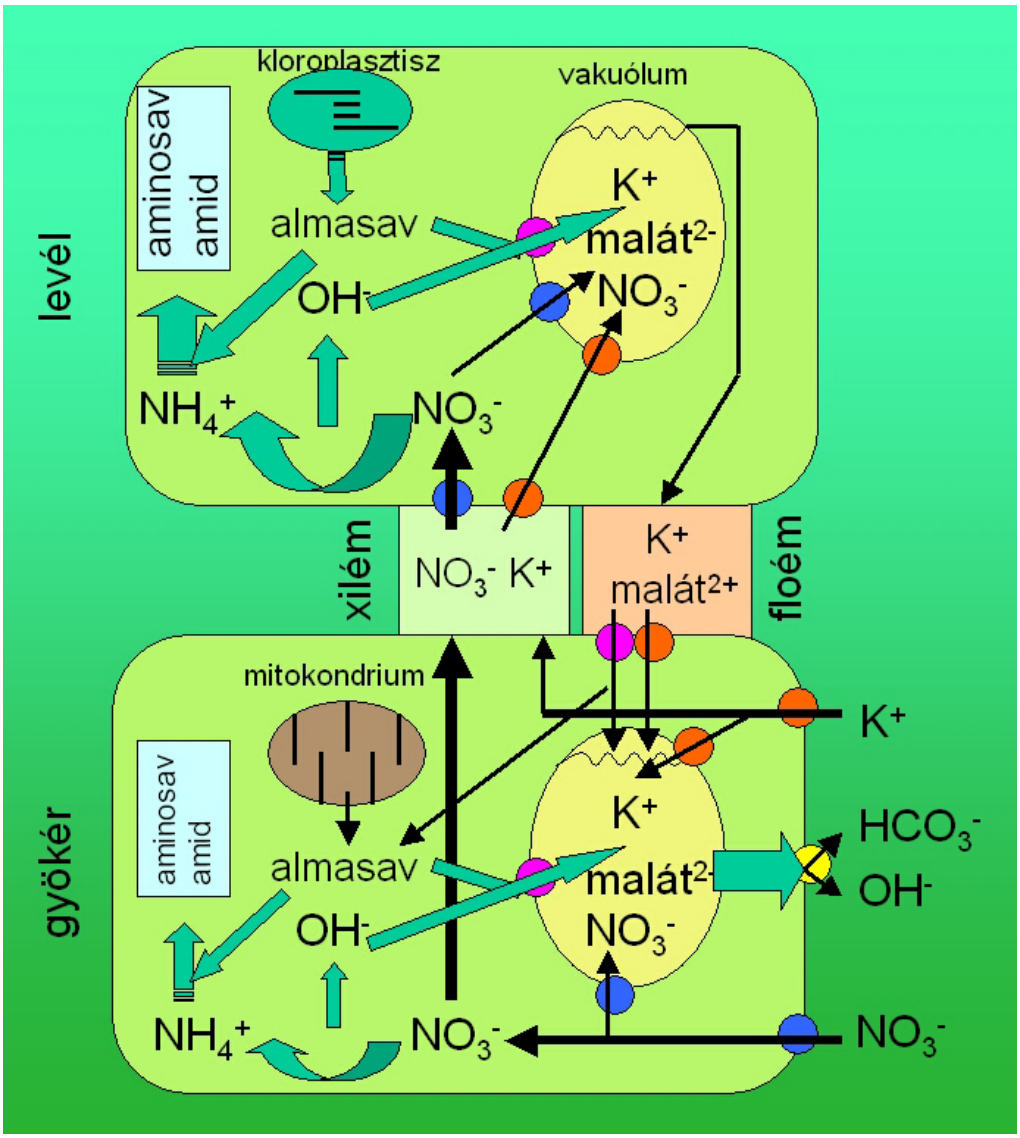
Számos elem fordul elő a talajban, amelyet a növények ugyan felvesznek, de sem növekedésgátló, sem pedig-serkentő hatását nem lehet kimutatni (pl. Rb, Ba). Vannak olyanok is (pl. Al), amelyek egyes növények számára közömbösek, mások számára serkentőek (pl. tea), megint másokban toxikusak. A V kation formában általában közömbös, de a vanadát anion a P-típusú H^+-ATPázok általános gátlószere. A Cd, a Hg és a Pb minden élő szervezetre toxikus hatású nehézfém. Közös tulajdonságuk, hogy hozzákötődhetnek enzimek szulfhidril csoportjához és így gátolják működésüket. Ezen túlmenően oxidatív stresszt okozhatnak és befolyásolják a növények növekedését, vízháztartását, illetve az esszenciális elemek felvételét. A Cd például a xilémbe citrátot leadó (FRD3) fehérjét gátolja, ami a vas hajtásba történő szállítását csökkentve vashiányt okoz. A Hg a vízcsatornák specifikus gátlószere.

2.3.5. A tápelemek fiziológiai jelentősége

2.3.5.1. Ozmoreguláció és pH: a nitrogén jelentősége

A nitrát a talajoldatból proton-szimport útján vevődik fel és – növényfajtól függően – 5–9%-ban a gyökérben redukálódik, a többi transzlokálódik a hajtásba (**2.15. ábra**). A redukcióban fel nem használt felesleg a vakuólumokban halmozódik fel, ahol főként K^+ ionok biztosítják a töltéskiegyenlítést. Ezzel szemben az ammónium felvétele kationformában történik. Az ammónium, ill. az ammónia azonban igen toxikus hatású, ezért azonnal aminosavakká, amidokká stb. kell alakulnia (**2.16.ábra**). Ez az átalakulás még a gyökérben megtörténik, és a hajtásba pl. glutamin, aszparagin stb. formájában már szerves-N transzlokálódik. Az ammónium jóval kisebb koncentrációban fordul elő a citoplazmában, mint a nitrát, de ugyanúgy raktározódhat a vakuólumban, amely ez esetben az inaktiválódás egyik módja, mert a savas pH meggátolja az ammónia képződését.

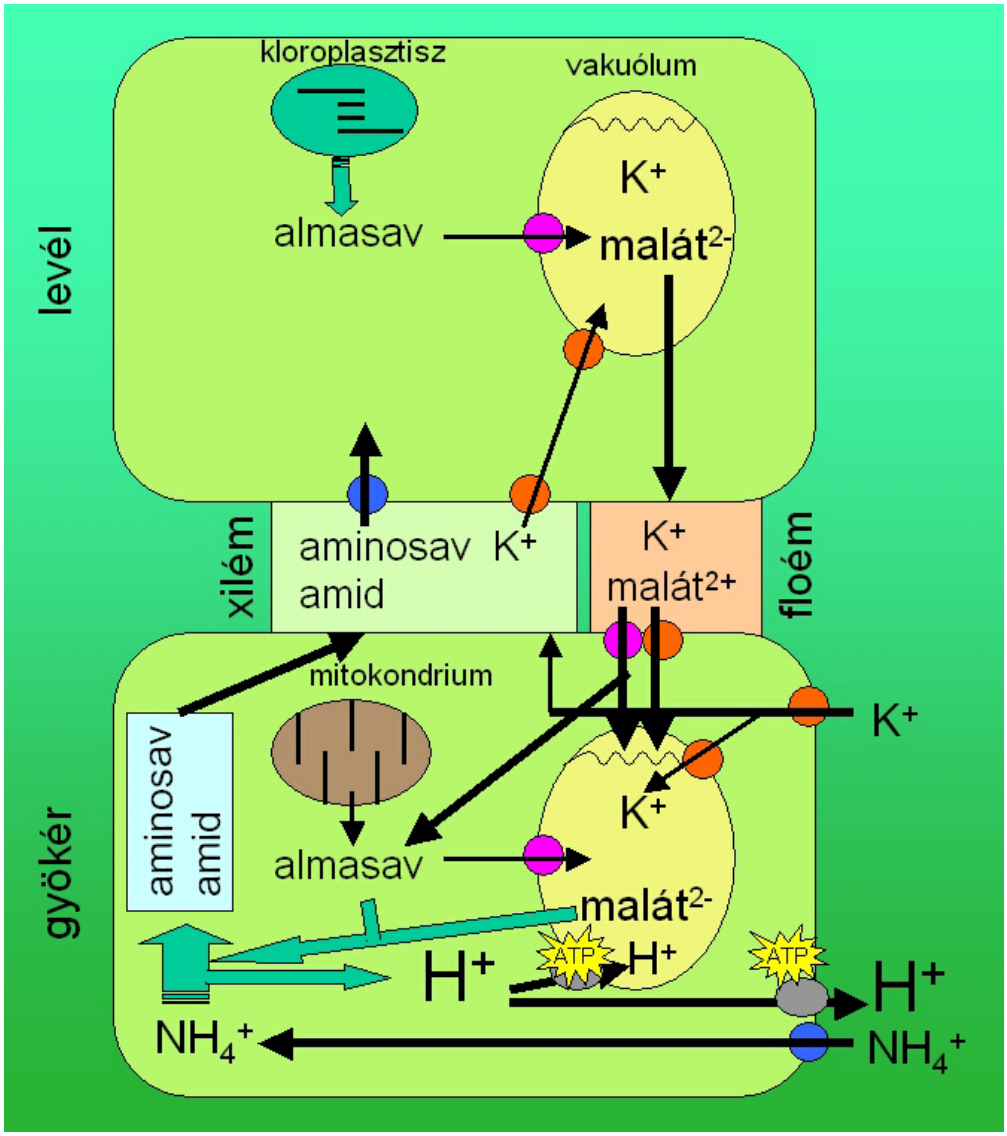
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



2.15. ábra A nitrát felvételének és asszimilációjának kapcsolata a növények ozmoregulációjával. (A nyilak a szállítás irányát és mértékét, a körök a szállításban résztvevő fehérjéket jelzik.)

A nitrát – asszimilációja során – először ammóniává redukálódik (lásd 6.1.2.2.), ami arra enged következtetni, hogy a növényeknek előnyösebb lenne ammóniumot felvenni. Az ammónium, mint egyedüli N-forrás, azonban sok növényre negatív hatással van. Az ammónium asszimilációja során a citoplazmában protonok szabadulnak fel a felvett ammóniummal kb. megegyező mennyiségben, amelyek a gyökérsejtekből leadódnak a külső környezetbe. Ha azonban a külső oldat pH-ja erősen savas, a protonleadás gátlódik és a citoplazma pH-ja csökken. A pH-egyensúly fenntartása érdekében szerves sav anionok szállítódnak a floémen keresztül a gyökérbe. Dekarboxiláció után a szénvázak túlnyomó többsége az N-tartalmú szerves vegyületek szintézisére használódik fel.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



2.16. ábra Az ammónium felvételének és asszimilációjának kapcsolata a növények ozmoregulációjával. (A nyilak a szállítás irányát és mértékét, a körök a szállításban résztvevő fehérjéket jelzik.)

A nitrát asszimilációja közben hidroxidionok képződnek. Miután azonban a nitrát részben transzlokálódik a hajtásba, az anyagcserét megterhelő töltés- és pH-kiegyenlítés megoszlik a gyökér és a hajtás között. A citoplazma pH lúgos irányú eltolódása a szerves savak képződésével kompenzálódik. A szerves savak vakuólumban történő tárolása azonban mennyiségileg korlátozott. Ezért a szerves savmaradék anionokat, leginkább malátot a növény a floémben a gyökérbe transzlokálja K-malát formájában. Itt az almasav dekarboxilálódik és OH^-, ill. HCO_3^- ionok adódnak le a külső környezetbe.

A fentiekből következően a különböző N-formák felvétele másodlagosan visszahat a külső közeg pH-jára. Az ammónium felvétele erősen savanyítja, a nitráté enyhén lúgosítja azt. Ezek a változások előbbi esetben ugyan elősegítik más fémionok oldódását és felvételét, a pH 4 alá, esetenként 3 közelébe történő csökkenése azonban erős növekedésgátláshoz vezet. A nitrát lúgosító hatása egyes esetekben más fémionok, pl. a vas immobilizációját idézheti elő, ami elsősorban a hajtásban, a levelekben vezethet felvételi problémákhoz. Ezért a legtöbb növény számára a nitrát és az ammónium különböző arányú felvétele teszi lehetővé az anyagcsere optimális működését. Vannak azonban obligát ammónium felhasználó növények, pl. a rizs.

A nitrát, malát és káliumionok akkumulációja a vakuólumokban nem csupán a citoplazma pH regulációja szempontjából, hanem a növény vízfelvétele szempontjából is nagy jelentőséggel bír. Ezek az ionok ozmotikusan aktív anyagok, amelyek csökkentik az ozmotikus potenciált, ezzel alapjaiban meghatározzák a növények vízháztartását is.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2.3.5.2. A sejt kalcium-forgalma

A citoplazmában a Ca^{2+} koncentrációja szigorúan szabályozott, értéke alacsony: 30-200 nM. Ugyanakkor a vakuólumban, az endoplazmatikus retikulumban és a külső térben ennek sokszorosa (100-800 nM) halmozódhat fel. E koncentrációgradiens fenntartásában a Ca^{2+}-ATPáz enzimeknek van kitüntetett szerepe. Ez az enzim felépítésében és működésében igen hasonlatos a plazmamembrán H^+-ATPázokéra. Két alegységből állnak, foszforilált intermedier kialakulásán keresztül kötnek meg a citoplazmatikus oldalon két Ca^{2+} iont, majd konformáció változás után a membránok citoplazmával ellentétes oldalán adják le. A reakció sztöchiometrája igen kedvező: 2 Ca^{2+} / ATP.

Ez a külső tér és egyes sejtkompartmentek, valamint a citoplazma között fennálló Ca-koncentráció különbség teszi alkalmassá a kalciumot másodlagos hírvivő funkció betöltésére. Egyes külső ingerek hatására megnő a kalciumcsatornák áteresztő képessége a membránokban, így a citoplazmába irányuló Ca-influx indul meg. Ilyen ingerek lehetnek hormonok (abszcizinsav, indolecetsav), sérülés, korokozók, fény- vagy hőmérsékletváltozás, vízhiány stb. A Ca^{2+} ionok beáramlását az apoplasztból többféle Ca^{2+}-csatorna teszi lehetővé – különböző hatásokra más-más csatorna aktiválódik (HACC, hiperpolarizációra aktiválódó; DACC, depolarizációra aktiválódó; VICC, feszültség független csatornák). A külső inger a vakuólumból, ill. az endoplazmatikus retikulumból is Ca-effluxot indít meg főként ligandumfüggő csatornákon át. A jelátvivő szerepét az inozitol-1,4,5-trifoszfát (IP_3), az IP_6, cADPR és a NAADP tölti be.

A Ca^{2+} a citoplazmában Ca-kötő fehérjékhez kapcsolódik (lásd 10.2.3. fejezet). Ezek egyik csoportja a Ca-függő protein kinázok, amelyek más enzimeket foszforilálnak, mint pl. a H^+-ATPázt. A Ca-kötő fehérjék másik csoportja a kalmodulinok, amelyek négy Ca^{2+}-t kötnek meg reverzíbilisen, ezáltal megváltozik a konformációjuk és aktivitásuk. A Ca-aktivált kalmodulin olyan kulcsenzimeket stimulál, mint a $NAD^+ \rightarrow NADP$ konverzióért felelős NAD-kináz vagy a Ca^{2+}-ATPáz.

2.3.5.3. A sztómaműködés mechanizmusa: a kálium szerepe

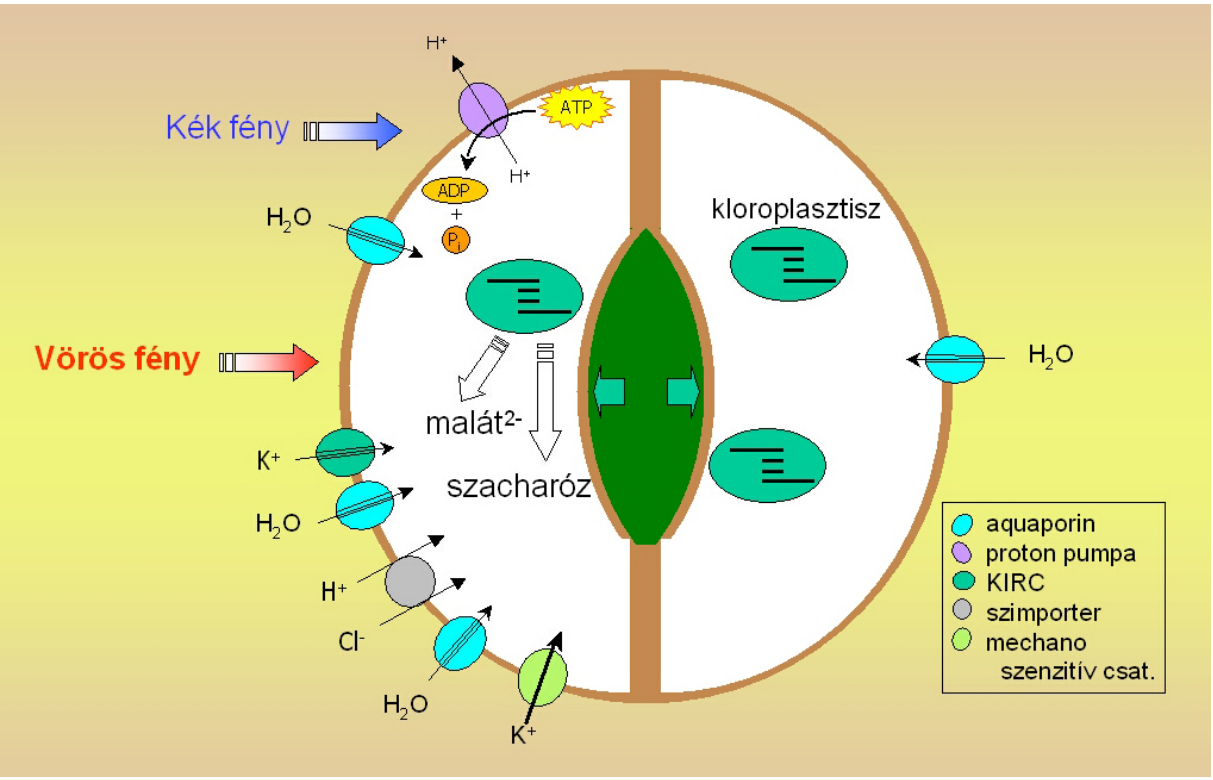
A sztómák nyitódását-záródását a zárósejtek vízfelvétele-leadása, vagyis turgorváltozása okozza, amely az asszimetrikus sejtfalvastagodás következtében a pórus nyílásához-záródásához vezet (Hugo von Mohl, 1856). A sztómák nyitása teszi lehetővé a gázcserét a fotoszintézishez és a légzéshez valamint a transpirációs vízleadást. A domináns környezeti tényező, amely a sztómák nyitását kontrollálja a vízzel jól ellátott növényeknél a fény. A sztómák nyitódásakor a sztómazáró sejtekben cukormolekulák képződnek, amelyek ozmotikumként csökkentik a vízpotenciált, ez vezet a vízfelvételhez. Záráskor pedig a cukorból ozmotikusan inaktív keményítő épül fel. A múlt században úgy gondolták, hogy ez a cukor-keményítő interkonverzió a hajtóereje a sztómák működésének (F. E. Lloyd, 1908).

A későbbi kísérletek alátámasztották a fotoszintézis szerepét a sztómák nyitásában. Ugyanis a fotoszintetikus elektrontranszportlánc gátlószerével, DCMU-val (3-(3,4-diklór-fenil)-1,1-dimetilurea) kezelve a megvilágított zárósejteket a nyitás részlegesen gátlódott. A gátlás tehát nem volt teljes, ami arra utalt, hogy nem csak a fotoszintézisre hat a fény. Különböző hullámhosszú fényt alkalmazva kimutatták, hogy a kék fény önmagában is megindítja a nyitódást, a fotoszintetikus szénhidrát-produkció nélkül.

A fotoszintézis azonban vörös és kék fény hatására is megindul a zárósejtekben. Mi lehet a kék fény szerepe? Újabb kísérletekben először vörös fénnyel világították meg a zárósejteket, a fényintenzitást addig növelve, amíg további nyitódás nem történt. Ezután kis intenzitású kék fényt alkalmaztak, ami további nyitódást eredményezett. Ez tehát nem függ össze a fotoszintetikus aktivitással. Megállapították, hogy a kék fény hatására az apoplaszt savanyodik, de a vanadát kezelés hatására ez megszűnik, tehát a H^+-ATPázok aktiválódnak. Közben azt is kimutatták, hogy vannak olyan növények, amelyeknél a sztóma zárósejtekben nincsenek kloroplasztiszok (pl. *Allium cepa*). Mára így bebizonyosodott, hogy a sztómák nyitását a kék fény indítja meg a H^+-ATPázok serkentésével, amelyek 0,5-1 pH különbséget és 150-200 mV potenciálkülönbséget hoznak létre a membrán két oldala között (**2.17. ábra**). A membrán tehát hiperpolarizálódik, ami a KIRC K^+ csatornák nyitását idézi elő. Ezt Cl^--proton szimport követi biztosítva a töltéskiegyenlítést. Csökken a vízpotenciál, ami vízfelvételhez és turgornövekedéshez vezet. A feszülő membránokban aktiválódnak a mechanoszenzitív K^+ csatornák is, ami nagymértékű K^+ felvételt tesz lehetővé. A töltéskiegyenlítéshez már nem elegendő a Cl^- felvétele. A kloroplasztiszokban megindul a keményítő lebomlása. A kloroplasztiszból DHAP szállítódik a citoplazmába a foszfát transzlokátoron, ahol a glikolízisbe lép (lásd 4.2.1. fejezet), végül maláttá alakul. Mind a K^+ és a Cl^-, mind pedig a malát^{2-} a vakuólumba szállítódik. Később, ahogy a nap folyamán a vörös fény intenzitása is nő, egyre inkább eltolódik a folyamat a malátképződéstől a szaharóz

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

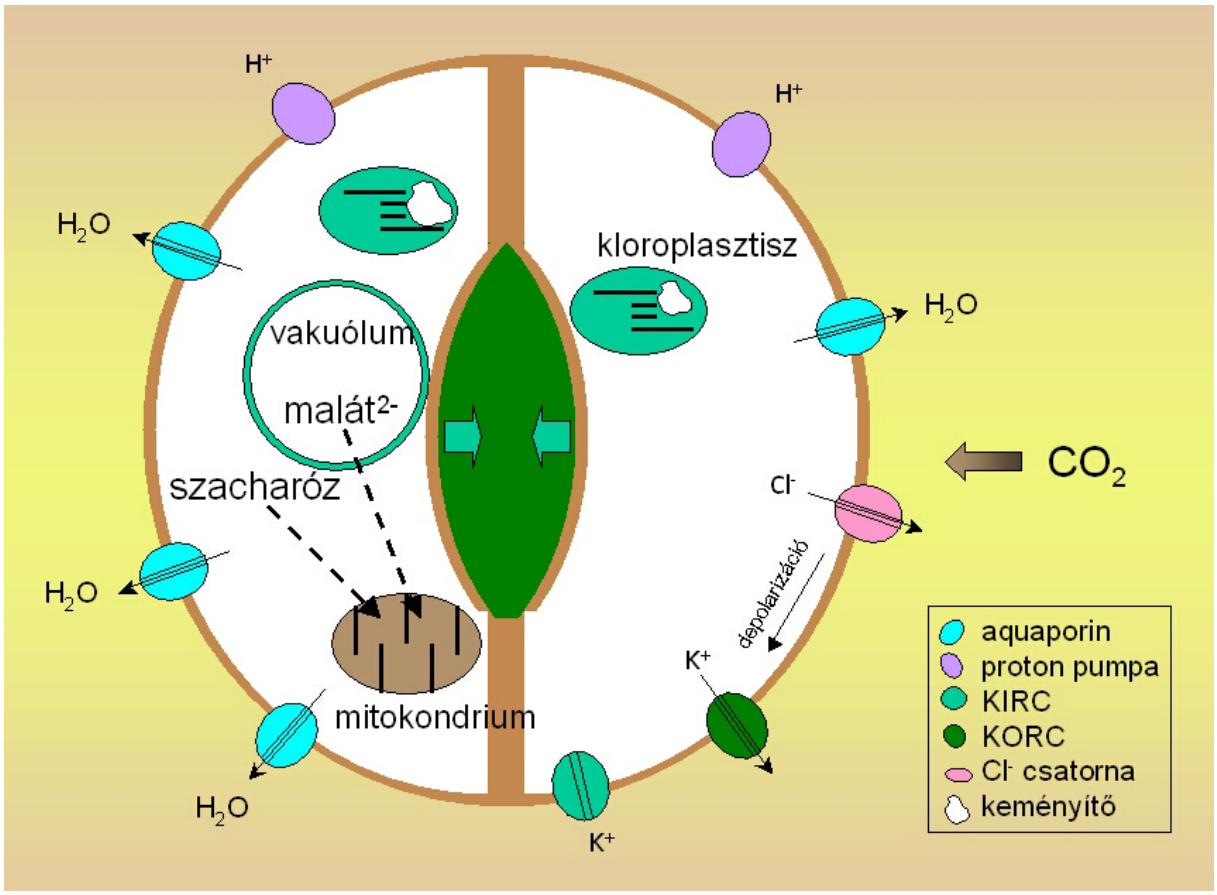
szintézis irányába a citoplazmában, ami főként a Calvin ciklusban megkötött CO_2-on alapul, de a raktározott keményítőből is kiindulhat. A kék fényt a plazmamembránban és a thylakoid membránokban található fotoreceptorok (fototropin, ill. zeaxanthin) érzékelik és aktiválják a H^+-ATPázokat, illetve a keményítő lebontását.



2.17. ábra A sztómák fény hatására történő nyitódásának mechanizmusa

A sztómák normális körülmények között a fényintenzitás csökkenése, illetve a CO_2 tenzió növekedése miatt kezdenek el záródni (**2.18. ábra**). Ezek a környezeti hatások a H^+-ATPázok inaktiválódását, illetve az anioncsatornák indukcióját okozzák, amely utóbbi gyors anionleadáshoz (Cl^-, $malát^{2-}$) vezet. Ez hosszan tartó membrán depolarizációt okoz és aktiválja a KORC K^+ csatornákat. A képződött szaharóz lebomlik, leadódik, illetve keményítő szintetizálódik. Mindez a zárósejtekben a vízpotenciál növekedését idézi elő, ami vízleadást, turgorvesztést és sztómazáródást eredményez.

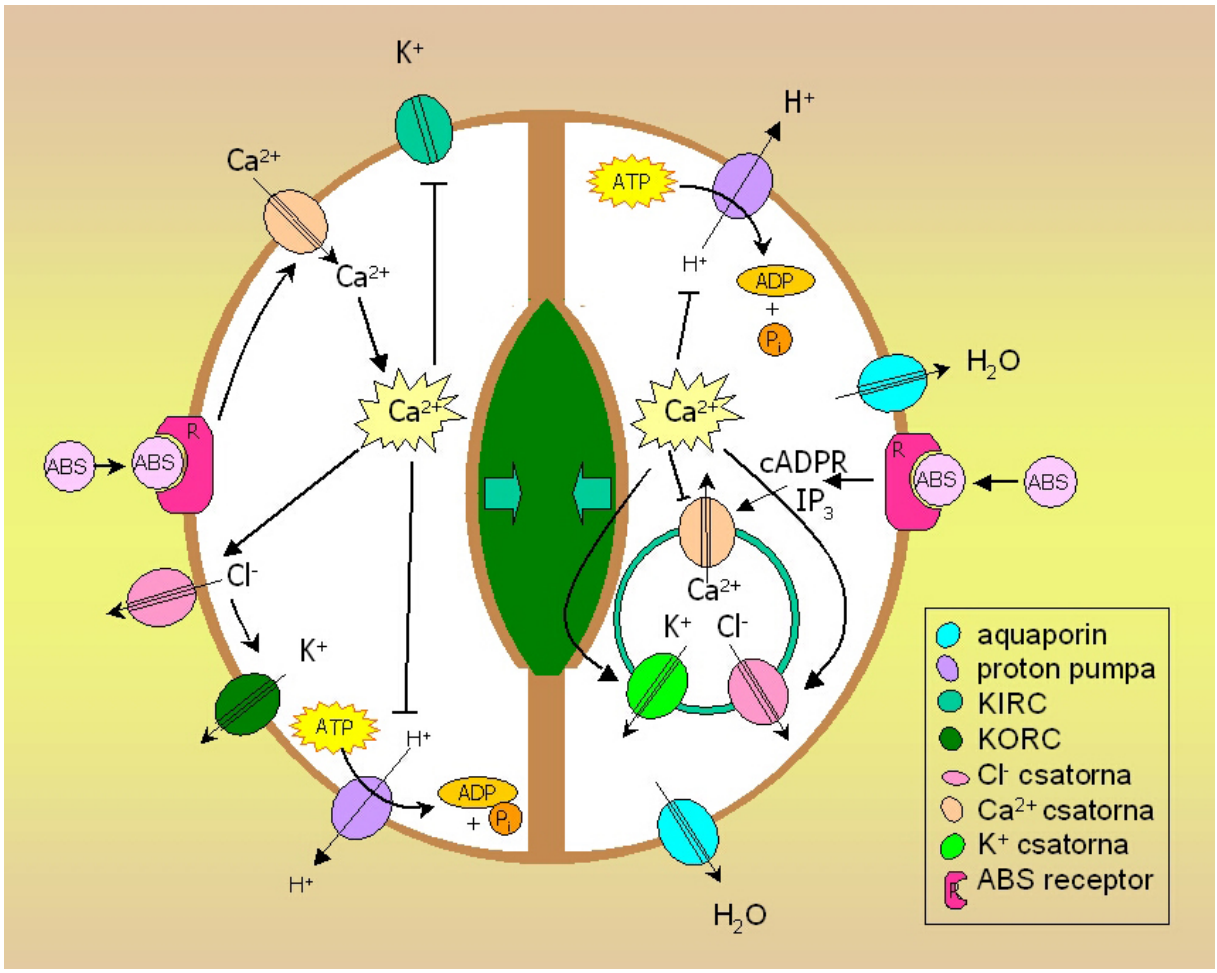
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



2.18. ábra A sztómák záródásának mechanizmusa

A növények azonban stressz körülmények között egy belső szignál, az abszcizinsav (ABA) nevű hormon hatására is bezárják sztómáikat. Ez szárazság stresszben megóvja a növényt a vízvesztéstől. Az ABA szintézise a gyökérben a növény vízellátásának csökkenésekor növekszik, és egyre több szállítódik a hajtásba a xilémben. Ilyenkor a xilém nedv pH-ja az enyhén savasból enyhén lúgosba vált, aminek hatására az ABA-ról egy proton ledisszociál, így negatív töltésű lesz. Az ABA^- nem kötődik meg a mezofillum sejteken, hanem eléri a sztómazárósejteket és egy **szignál transzdukciós** folyamatot indít meg. Ennek három mechanizmusa, útja lehet: Ca^{2+}-függő út, pH-függő út és NO (nitrogén monoxid)-függő út. Ezek közül itt a legjobban ismert, Ca^{2+}-függő utat ismertetjük.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



2.19. ábra A sztómák ABA által közvetített záródásának mechanizmusa. (A nyilak a serkentést, a „T” végződések a gátlást szimbolizálják.)

Első lépésben az ABA hozzákapcsolódik a sejtmembránban található receptorhoz (**2.19. ábra**). Ennek hatására több folyamat indul meg egyszerre. A HACC az ABA hatására pozitívabb membránpotenciálnál nyílik, így gyors Ca^{2+} beáramlás indul meg. Közben cADPR és IP_3 képződik, amelyek vakuóláris Ca^{2+} csatornákat aktiválnak, így a vakuólumokból is Ca^{2+} ionok jutnak a citoplazmába. A citoplazmatikus Ca^{2+} koncentráció növekedése gátolja a H^+-ATPázokat, de egyben a vakuóláris Ca^{2+} csatornákat is szabályozza, és nyitja a vakuóláris K^+ és Cl^- csatornákat. Mindez a sejtmembrán hosszantartó depolarizációjához, a KIRC inaktivációjához, az anion-csatornák, valamint a KORC aktivációjához vezet. Így a K^+- és anion efflux a vízpotenciál növekedését, vízleadást, turgorcsökkenést és a sztómák záródását eredményezi.

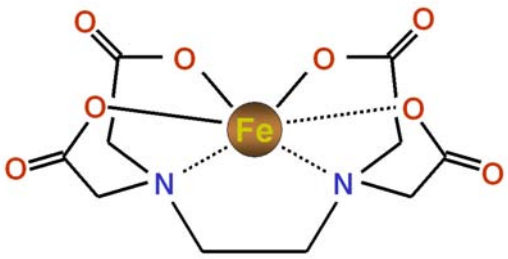
2.3.5.4. A növények vasfelvétele és a vas-kelátok jelentősége

A talajban az oldható vastartalom erősen függ a pH-tól. Az alacsony pH kedvező, a lúgos tartomány felé haladva (pl meszes talajokban) hatványozottan nő a vas kicsapódása $Fe(OH)_3$ formában, amely a növények számára nem felvehető. A meszes, oxigénhiányos talajon gyakran fordul elő **vasklorózis** (más néven mészklorózis), amelynek elsődleges oka a magas $CaCO_3$-, ill. bikarbonát tartalom. A magas HCO_3^--koncentráció pufferolja a pH-t a talajban és az apoplasztban. Ezért a növényvilág adaptálódott a különböző körülményekhez. Elégtelen vasellátás mellett a növényekben nagy affinitású transzport mechanizmusok aktiválódnak. Az ún. **I stratégiát** követő növények gyökerében, morfológiai elváltozások láthatók (megvastagodás, transzfer sejt képződés), és megnő a H^+-ATPáz expressziója/aktivitása a rizodermisz membránban, ami jelentős proton gradiens kialakulásához, az apoplaszt savanyodásához vezet, és elősegíti a gyökér környezetében a vas oldódását/mobilizálódását. Az oldódó vas a gyökér által leadott (pl. citromsav, riboflavin) vagy a talajban található szerves anyagokkal oldékony komplexet vagy kelátot képezhet. Ezzel párhuzamosan a FRO2 vas-kelát reduktáz enzim expressziója 10-20-szorosára nő. Ennek hatására a rizodermiszhez érkező szerves vasvegyületek gyorsan redukálódnak és Fe^{2+} ionok válnak szabaddá.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Ezeket a szintén megnövekedett mennyiségű IRT1 (iron regulated transporter 1, vas által szabályozott transzporter 1) szállítja a citoplazmába.

A kísérleti növénynevelésben (tápoldatokban) és a mezőgazdasági gyakorlatban a vasfelvételt szintetikus komplexképzőkkel, leggyakrabban az EDTA-val (etilén-diamino-tetraecetsav) biztosítják, de számos más vegyületet is előállítottak (EDDHA, DTPA stb.). A kelátképző ligandumok karboxilcsoportok vagy elektrondonor nitrogént tartalmazó csoportok segítségével koordinációs komplexbe zárják a vasat (**2.20. ábra**). A különböző kelátkomplexek stabilitása azonban szintén pH-függő. A Fe-EDTA pH=5–6 között 100%-a stabil, 1:1 arányú komplex formában van jelen az oldatban, de pH=7-től felfelé elveszíti stabilitását, míg az Fe-EDDHA lúgos tartományban is stabil.



2.20. ábra A Fe-EDTA szerkezete

A **II. stratégiá**t követő pázsitfüvek (*Graminaceae*) redukció nélkül vas(III)-kelát komplex formában veszik fel a vasat a YS1 (yellow stripe 1) vas-kelát-proton szimporter segítségével, amelyhez a komplexképző anyagot maga a növény termeli és adja le a rizoszférába. Ezek a komplexképző anyagok a **fitosziderofór**ok, amelyek nagy stabilitású kelátot képeznek a Fe^{3+} ionokkal, amelyeket még a talajrészecskék felületéről is képesek mobilizálni, vagy lecserélni más, kevésbé stabil szerves komplexéből. A fitosziderofórok metioninból több lépésben szintetizálódó **mugineinsav**ak, amelyek a különböző vizsgált gabonafélékben kis mértékben eltérő szerkezetűek.

A sejten belül a Fe^{2+} oxidatív hatású és a sejtre nézve káros szabadgyökök képződését indukálja, ezért (eddig ismeretlen mechanizmussal) gyorsan visszaoxidálódik. A vasat a sejten belül egy speciális növényi anyag, a fitosziderofórok prekurzora, a **nikociánamin** komplexálja. (Ez az minden eddig vizsgált növényben megtalálható.) A xilembe a vas ismét más formában szállítódik: a nikociánamin komplex felbomlik, és xilém parenchima sejtek Fe^{3+}-t adnak le a xilémbe, ami a nagy mennyiségben szállítódó citromsavval ismét komplexet képez és ebben a formában szállítódik a hajtásba.

A levélsejtekben ismét reduktív vasfelvétel történik, és a legújabb vizsgálatok arra mutatnak, hogy a sejtorganellumokban is hasonló folyamat játszódik le.

A vas sejten belül legnagyobb mennyiségben a kloroplasztiszokban, ill. a mitokondriumokban található. Ezek a növény összes vastartalmának mintegy 80-90%-át tartalmazzák. A vas olyan sok fiziológiai folyamathoz esszenciális, hogy felvétele, transzportja és raktározása mind sejtes, organelláris, mind az egész növény szintjén szigorúan regulált folyamat.

2.4. Ajánlott irodalom

Láng F. (szerk.)	Növényélettan. A növényi anyagcsere I-II. 2. kiadás.	ELTE Eötvös kiadó, Budapest, 2002.
Murata K., Mitsuoka K., Hirai T., Walz T., Agre P., Heymann J.B., Engel A., Fujiyoshi Y.	Structural determinants of water permeation through aquaporin-1.	Nature. 407, 599-605, 2000.
Pedersen B.P., Buch-Pedersen M.J. Morth J.P., Palmgren M.G. Nissen P.	Crystal structure of the plasma membrane proton pump.	Nature 450, 1111-1114, 2007.
Taiz L., Zeiger E. (szerk.)	Plant physiology. Fifth edition.	Sinauer, 2010.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3. fejezet - Fotoszintézis

szerző: Dr. Nyitrai Péter és Dr. Solti Ádám

3.1. Bevezetés

A növényi élet legjellemzőbb tulajdonsága a **fotoautotróf metabolizmus**, amely anyagcseretípus lehetővé teszi a növények minden szerves anyagának szervetlen építőkövekből történő felépítését, látható fény, mint energiaforrás segítségével. A fotoautotróf anyagcsere alapja a fény, mint energiaforrás hasznosítása. A fotoautotróf élőlények a fotoszintetikus pigmentjeik segítségével elnyelt fényenergiát a redukált, magas redoxpotenciálú donor-molekulák (D) oxidálására használják fel, miközben az így nyert redukáló kapacitással alacsony redoxpoteciálú akceptor molekulákat (A) redukálnak. A fotoszintézis alapegyenlete a következőképp írható fel:

$$H_2D + A \xrightarrow{\text{fény}} H_2A + D.$$

Magasabb rendű fotoszintetizáló élőlények esetébe a redukált donormolekula minden esetben H_2O, míg az elektrontranszportlánc végén a felszabaduló redukáló kapacitást konvertibilis **redukáló kapacitás-valuták** (NADPH, GSH, redukált ferredoxin és tioredoxin) tárolják a más felépítő biokémiai anyagcsere-folyamatok számára.

3.1.1. A fotoszintézis kutatásának története

A növényekre a történelem során sokáig olyan szervezetekként gondoltak, melyek talajjal táplálkoznak, „földet esznek”, ez a gondolkodásmód csak a 18. században indult változásnak.

A növényi anyagcsere megértésére tett első kísérletek között tartjuk számon **Joseph Priestley** (1733-1804) angol protestáns lelkész, az oxigén felfedezőjének munkáját. Pristley az égéssel és a légzéssel foglalkozott: kiinduló hipotézise az volt, hogy a növények és az állatok ugyanabban a levegőben élnek, tehát valószínűleg hasonlóan használják (’lélegeznek’). Feltételezése bizonyítására zárt térben egy gyertyát égetve kimutatta, hogy a gyertya lángja idővel elhasznált valamit a levegőből, ami az égést táplálta. Az égő gyertyával együtt összezárt egér hasonlóképpen elpusztult, azonban a növényi mintaként használt mentaág több hétig megélt benne, sőt hozzáadott valamit a levegőhöz, ami újra lehetővé tette a gyertya meggyújtását. A következő mérföldkövet **Jan Ingen-Housz** (1730-1799) holland kémikus tette meg: felfedezte, hogy csak a zöld növények és csak fényben reaktiválták a levegőt (termeltek oxigént). A fény elnyelésében kulcsszerepet játszó klorofillokat először **Joseph Bienaimé Caventou** és **Pierre Joseph Pelletier** izolálta sikerrel 1817-ben. **Julius von Sachs** (1832-1897) tette végül egyértelművé a fény és a növényi felépítő anyagcsere közötti kapcsolatot: fényre tett leveleket részben letakart, tehát sötétben tartott, majd pár órás megvilágítás után jódoldattal itatta át a leveleket. Mint ekkor már ismert volt, a növényi levelek keményítőt tartalmaznak, valamint a keményítő a kálium-jodidos jódoldattal (jodin, I_5^-) lila színreakciót ad. Sachs kísérleteiben, 1862-ben, a lila színreakció csak a megvilágított levél-félben volt látható, sötétben tehát a levelek nem szintetizáltak keményítőt, szintézise tehát fényhez kötött (**fotoszintézis**). Magát a tényleges mechanizmust azonban még sokáig nem tudták részleteiben feltárni (Otto Warburg például 1969-ig tartotta azt a téves nézetét miszerint az O_2 a CO_2 klorofillok által mediált, segített, fény-indukált lebomlása során keletkezik, és a felszabaduló szén vízzel egyesülve alkot szénhidrátokat). A növényi sejtben a kloroplasztiszokat régóta, az első mikroszkópok megalkotása óta ismerték, és a 19. században már egyértelműen a fotoszintézishez, mint anyagcsere-funkcióhoz kötötték szerepüket. Ezt a feltételezést végül **Theodor Wilhelm Engelmann** (1843-1909) bizonyította 1881-ben. Megfigyelte, hogy baktériumokkal (*Proteus*) együtt tartott „*Spirogyra*” (ma: *Cladophora*) zöldalga felé megindul a baktériumok mozgása, ha megvilágítja azt. Feltételezte, hogy a baktériumok a zöldalga által termelt oxigén miatt mutatnak irányított mozgást (pozitív aerotaxis). Megfigyelései nyomán 1882-ben először vette fel a fotoszintézis **akcióspektrum**át (a megvilágítás spektrális tulajdonságai és a termel oxigén mennyisége közötti összefüggést) egy Carl Zeiss által épített mikroszkóp-spektroszkóppal. Megállapította, hogy a baktériumok csak a hosszú algasejt megvilágított szakasza mentén gyülekeznek és hatásában a kék illetve a vörös fény a leghatékonyabb. **Frederick F. Blackman** (1866-1947) fedezte fel a fotoszintézis kétarcú tulajdonságát 1905-1911 között. Ha alacsony fényintenzitásokon és magas (nem limitáló) széndioxid koncentrációnál vizsgálta a fotoszintézis intenzitását, azt tapasztalta, hogy az, egy adott szakaszon, teljesen lineárisan függött az alkalmazott fény intenzitásától és a hőmérséklet változtatása nem befolyásolta a folyamat intenzitását. Ebben az esetben tehát csak a fény intenzitása szabta meg a reakció rátáját, ami a fotokémiai folyamatokra jellemző. Ha a fotoszintézis

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

intenzitását magas (nem limitáló) fényintenzitáson és alacsony széndioxid koncentrációk mellett vizsgálta, akkor a reakció intenzitása a széndioxid koncentrációtól függött lineárisan, ekkor azonban már a hőmérséklet változtatása is erősen befolyásolta a reakció intenzitását. Felvetette tehát annak gondolatát, hogy a fotoszintézis maga két szakaszra bontható, melyeket "**fényszakasz**" (fotokémiai szakasz) és "**sötétszakasz**" (biokémiai szakasz) néven szoktunk említeni..Az 1920-as években Otto Warburg hibásan azt feltételezte, hogy a fényből származó gerjesztési energia a CO_2-t aktiválja, így az kémiai reakcióba léphet a vízzel, amely reakcióban cukrok és molekuláris oxigén keletkezik. Ma már ismerjük, hogy a fotoszintézisben megterelt oxigén nem a CO_2-ből, hanem a vízből származik. 1931-ben **Cornelius van Niel** holland mikrobiológus már feltételezte, hogy a fényenergia elnyelése valamilyen reduktáns kialakulását eredményezi, és ez redukálja a CO_2-t:

$$CO_2 + 2H_2A \xrightarrow{\text{fény}} [CH_2O] + H_2O + 2A,$$

ahol $[CH_2O]$ a szénhidrátok alapegységét képviseli. A fotoszintézis tehát egyszerű redox folyamatnak fogható fel, melyben a víz oxidálódik (fényszakasz), és a CO_2 redukálódik (sötétszakasz). Zöld növényekben és cianobaktériumokban ez az egyenlet a következőképpen írható fel:

$$CO_2 + 2H_2O \xrightarrow{\text{fény}} [CH_2O] + H_2O + O_2,$$

tehát a redukáló erő a vízből származik. **Robert Hill** 1937-ben kimutatta, hogy izolált kloroplasztiszok megvilágításkor mesterséges elektron akceptorok – ferricianid, vagy redukálható festékek – jelenlétében oxigént termelnek a következő egyenletnek megfelelően:

$$2H_2O + 2A \xrightarrow{\text{fény}} 2AH_2 + O_2,$$

ahol A az elektron akceptor. Mivel a reakcióhoz nem kell a CO_2 jelenléte, bizonyossá vált, hogy a fotoszintézis két, elkülönülő szakaszból: egy fényenergiát igénylő (fényszakasz) és egy fényenergiát közvetlenül nem igénylő (sötét-, vagy biokémiai szakasz) részből áll. A fenti reakció mint Hill-reakció vált ismertté. A Hill-reakció felfedezése után **Daniel I. Arnon** 1958-ban pedig bizonyította, hogy az elektron akceptor szerepét a Hill-reakcióban a $NADP^+$ is betöltheti:

$$2\,H_2O + 2NADP^+ \xrightarrow{\text{fény}} 2NADPH + 2H^+ + O_2$$

Mivel a NADPH számtalan bioszintetikus folyamat elektrondonoraként volt már ismeretes, kézenfekvő volt a feltételezés, hogy a fényreakció egyik végterméke a NADPH, ami a CO_2 redukciójára használódhat föl. A későbbiekben ez az elképzelés teljes mértékben beigazolódott. A megvilágítás elsődleges szerepe tehát, hogy oxidált koenzimből ($NADP^+$) és ADP+P_i-ből megvilágítás hatására redukált koenzim (NADPH) és ATP keletkezik. A sötétszakaszban a redukáló kapacitás- és az energiavaluta felhasználásával a CO_2 redukciója megy végbe, amely egyszerű szerves vegyületeket: cukrokat eredményez. Ma szűkebb értelemben fotoszintézisnek hívjuk a fény, mint energiaforrás biokémiai energiává és redukáló kapacitássá történő konvertálását, tágabb értelemben pedig minden olyan anyagcsere-folyamatot, amelyben az így megtermel energia és redukáló kapacitás segítségével szervetlen anyagok **asszimiláció**ja (beépülése) valósul meg.

3.1.2. A fotoszintetizáló élőlények

A fotoszintézis tehát olyan anyagcsere utat jelöl, amely lehetővé teszi egy élő szervezet számára a fény, mint energiaforrás felhasználását felépítő anyagcsere-folyamataiban. Ahogyan az a fotoszintézis általános reakcióegyenlete leírja, az elnyelt fény energiája egy redukált donor molekula oxidálására használódik ($H_2D \rightarrow D + 2H^+ + 2e^-$), és az így nyert redukáló kapacitást akceptor molekulák redukálására ($2H^+ + 2e^- + A \rightarrow H_2A$) fordítja. Amennyiben mind a donor, mind az akceptor molekulák szervetlen vegyületek, **fotoautotróf anyagcsere**ről beszélhetünk (zöld növények esetében az a H_2O és a CO_2), míg a szerves elektrondonorokat használó anyagcsere utat **fotoheterotróf**nak nevezzük. A fotoautotróf fotoszintetizálók további csoportokra oszthatók az alapján, hogy milyen szervetlen donormolekulákat oxidálnak, így elkülönítünk **oxigéntermelő** és **nem oxigéntermelő fotoszintetizáló** élőlényeket. Fotoszintetizáló élőlényeket találunk mind a bakteriális, mint az eukarióta szervezetek között (3.1. táblázat).

3.1. táblázat A fotoszintetizáló élőlények által használt anyagcseretípusok és fotoszintetikus apparátusuk elektrondonor-molekulái.

Domén	taxon	magyar név	anyagcsere típusa	e^--donor

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Archea	Halobacteria		fotoheterotróf	nincs (csak transzmembrán protontranszport)
Bacteria	Firmicutes / Heliobacteriaceae		fotoheterotróf	szerves vegyületek
	Chloroflexi	zöld nem-kén baktériumok	fotoheterotróf	H_2, H_2S
	Proteobacteria / Rhodospirillaceae	bíbor nem-kén baktériumok	fotoheterotróf	H_2, szerves vegyületek
	Proteobacteria / Chromatiales	bíbor kénbaktériumok	aerotoleráns fotoautotróf	H_2, H_2S
	Chlorobii	zöld kénbaktériumok	foto-litoautotróf	H_2, H_2S, Fe^{2+}
	Cyanobacteria	kékbaktériumok	aerob fotoautotróf	H_2O (H_2, H_2S)
	Cyanobacteria/ Prochloraceae		aerob fotoautotróf	H_2O
Eucarya	Plantae, Chromista		aerob fotoautotróf	H_2O

Az Archea-k közé tartozó *Halobacterium*-ok közé olyan extrém sótűrő, fakultatív anaerob szervezetek tartoznak, amelyek anaerob körülmények között felhasználják a látható fény energiáját energiatermelésre. Nem valódi fotoszintetizálók és a „fotoszintetikus" apparátusuk gyökeresen eltér minden más fotoszintetizáló élőlénytől: fotoszintetikus pigmentjük a bakteriorodopszin fehérjéken kötött retinal molekulák, melyek fény hatására transz → cisz átalakuláson mennek keresztül, és ezzel párhuzamosan protonpumpaként funkcionálnak.

A Firmicutes törzsbe tartozó *Heliobacterium*-ok a *Clostridium*-okkal rokonságban álló fotoheterotróf valódi fotoszintetizálók, melyek azonban fény nélkül is képesek életben maradni fermentatív anyagcseréjük segítségével. A Chloroflexi törzs Chloroflexales rendjébe tartozó Gram-negatív baktériumok (zöld nem-kén baktériumok: *Chloroflexus, Oscillochloris, Chloronema*) hasonlóképpen valódi fotoszintetizálók: anyagcseréjük anaerob fotoheterotróf jellegű, elektrondonorként kén-hidrogént, tioszulfátot és elemi ként használnak, de képesek az elemi hidrogén hasznosítására is. Képesek szervetlen szenet is megkötni a 3-hidroxipropional anyagcsereút segítségével. Szintén Gram-negatív fotoheterotróf baktériumok tartoznak a Proteobacteria törzs Rhodospirillaceae családjába, melyek bíbor nem-kén baktériumok néven is ismertek. Fotoszintetikus elektrontraszportlácuk elektrondonorai szerves molekulák és molekuláris hidrogén (korábban Athiorhodaceae nevén voltak ismertek, ugyanis nem halmoznak fel elemi ként), anyagcseréjük fotoheterotróf jellegű. Kismértékű aero- (O_2-) toleranciát mutatnak. A Proteobacterium-ok közé azonban fotoautotróf szervezetek is tartoznak (Chromatiaceae, Ectothiorhodaceae), amelyek hasonlóképpen anaerob, de aerotoleráns baktériumok, fotoszintézisük elektrondonora azonban a H_2S, és részben a H_2 („Thiorhodaceae": elemi ként felhalmozó bíbor kénbaktériumok). Autotrófiájuk alapja a reduktív pentóz-foszfát ciklussal (v.ö. 4.5. fejezet) végzett szén-asszimiláció. A H_2S a legtöbb élőlény számára mérgező vegyület, a kénbaktériumok is legfeljebb 10 µM koncentrációban képesek elviselni. A Chlorobii törzsbe tartozó zöld kénbaktériumok hasonlóképen kén-hidrogént, molekuláris hidrogént is ferro- (Fe^{2+}) ionokat használnak elektrondonorként, anyagcseréjük fotoautotróf szervezetek, azonban nem mutatnak aerotoleranciát így erősen reduktív környezetben életképesek. Szénasszimilációjuk alapja a reduktív, retrográd működésű trikarbonsav- (TCA-) ciklus működése (v.ö. 4.3.2. fejezet).

Oxigéntermelő fotoszintézisre azok a fotoszintetizáló szervezetek képesek, amelyek a vizet, mint elektrondonort képesek oxidálni, így fotoszintézisük melléktermékeként molekuláris oxigén keletkezik. A legegyszerűbb oxigéntermelő fotoszintetizálók a kékbaktériumok (Cyanobacteria), amelyek obligát fotoautotróf anyagcserét folytatnak, azonban anaerob körülmények között képesek a molekuláris hidrogén és a kén-hidrogén, mint elektrondonor hasznosítására is. Anyagcseréjük számos tekintetben megegyezik a magasabb rendű fotoszintetizáló növényekével, azonban anaerob körülmények között képesek a molekuláris nitrogén asszimilációjára is (heterociszta-képzés). A korábban önállónak gondolt, ma szintén kékbaktériumoknak tartott tengeri *Prochlorophyton*-ok fotoszintézise a többi kékbaktériumhoz hasonló, azonban nem képesek anaerob módon fejlődni és hiányoznak belőlük a fikobiliszómák is. A magasabb rendű oxigéntermelő fotoszintetizáló élőlények közé olyan eukarióta szervezetek tartoznak, amelyek elsődleges (Plantae) vagy többszörös (Chromista) szimbiogenezissel tettek szert

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

a fotoszintézis képességére, fotoautotróf anyagcseréjük így a fotoautotróf kékbaktériumok anyagcseréjén alapul tehát.

3.2. Fotoszintetikus pigmentek

A fény, mint energiaforrás hasznosításához a fotoszintetizáló élőlényeknek el kell tudniuk nyelni (abszorbeálni) a látható tartományú elektromágneses sugárzást, és annak energiáját kémiai kötésekké formálva kell konzerválni. Az elnyelt fény energiája által meghajtott reakciókat hívjuk fotokémiai reakcióknak. A fotoszintézis első lépése tehát a fény abszorpciója, amely feladatot ún. pigment-molekulák látják el. A fotoszintetizáló szervezetekben számos fotoszintetikus pigment található: fotoszintetikus pigmentnek hívjuk mindazon pigment-molekulákat, amelyek fényt elnyelve közvetve vagy közvetlenül fotokémiai reakciókat képesek katalizálni a fotoszintetikus apparátusban.

3.2.1. Klorofillok

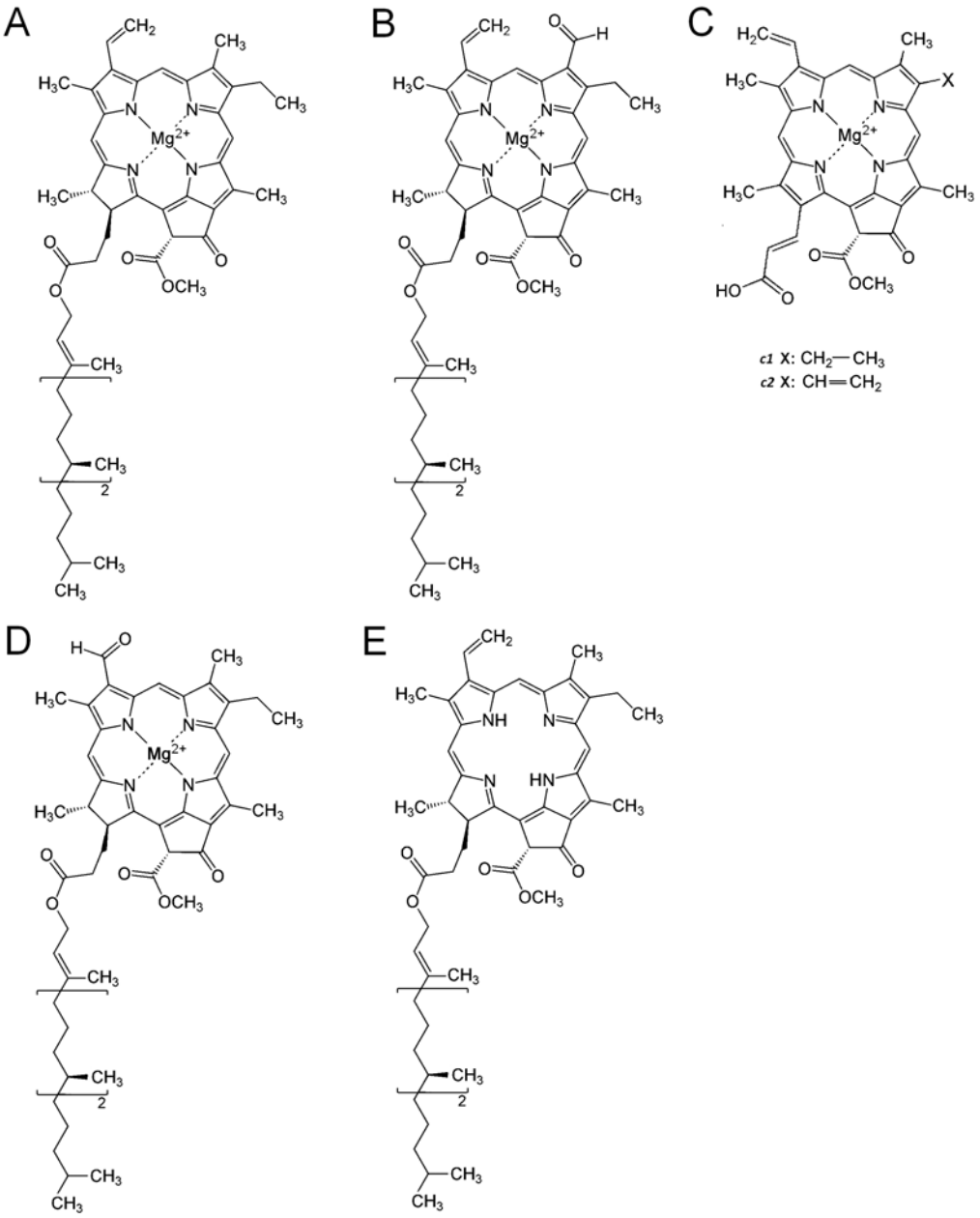
A fotoszintetizáló szervezetek legfontosabb fotoszintetikus pigmentjei a klorofillok. Szerves oldószerrel a különböző fotoszintetizáló szervezetekből számos különböző klorofillt lehet kivonni, melyek egymástól mind kémiai, mind fényelnyelési (spektroszkópiai) tulajdonságaikban különböznek. A klorofillok olyan négy pirrol-gyűrűből felépülő porfirin-vázas vegyületek, melyek a gyűrű közepén egy Mg^{2+}-iont komplexálnak. A porfirin-vázon belül a kettőskötés-rendszer π elektronpárjai delokalizált rendszert alkotnak, amely kiemelt jelentőséggel bír a klorofillok fényabszorpciós tulajdonságai szempontjából. A kékbaktériumok csupán egyféle klorofillt, **klorofill-*a***-t tartalmaznak, azonban zöld növényekből (Viridiplantae) kétféle klorofillt lehet izolálni, melyeket **klorofill-*a*** és **klorofill-*b*** éven ismerünk (3.1. ábra). Mind a klorofill-*a*, mint a klorofill-*b* vázában a négy pirrol-gyűrűn felül egy-egy ciklopentanon-gyűrű is kialakul a III. gyűrűhöz kapcsolódva. A IV. gyűrűhöz kapcsolódó propionsav-oldalláncot pedig egy 20 C-atomos diterpenoid alkohol, a fitol észteresíti, amely hosszú, heteroatomot nem tartalmazó szénlánca miatt apoláros tulajdonságot hordoz. A klorofill-*a* és klorofill-*b* között a különbséget a II. pirrol-gyűrű 3. C-atomjához kapcsolódó metil- illetve formil-csoport jelenti, amely kismértékű, de nagyon jelentős különbségeket eredményez a két pigment spektroszkópiai tulajdonságaiban. A klorofill-*a* és klorofill-*b* mindig megtalálható a magasabb rendű növényekben és a zöld algákban, egymáshoz viszonyított arányuk általában 3:1 körül mozog. Savas közegben a klorofill-*a* könnyen leadja a komplexált Mg^{2+}-ot, helyette két H^+ lép be a molekulába, mely molekulát **feofitin-*a***-nak nevezünk. A feofitin-*a* kis mennyiségben természetes körülmények között is megtalálható a növényi szervezetekben és jelentős szerepe van a fotoszintézis folyamatában.

Számos Chromista regnumba tartozó heterokont fotoszintetizáló szervezetben, így barna- (Phaeophyceae) és kovaalgákban (Bacillariophyceae) a klorofill-*a* mellett **klorofill-c_1** és **-c_2** található meg. A klorofill-c_1 a klorofill-*a*-tól az I. gyűrű 2. C-atomjához kapcsolódó vinil-csoport cisz-transz állásában különbözik, valamint hiányzik a propionsavat észteresítő fitol is. A klorofill-c_2-ben pedig a II. gyűrűn a 4. C-atomhoz kapcsolódó etil-csoport is telítetlenné válik. Vörösalgákban (Rhodophyta) a klorofill-*a* mellett **klorofill-*d***-t találunk, amely az I. gyűrű 2. C-atomján formil-csoportot hordoz.

Az oxigént nem termelő, vízbontásra nem képes fotoszintetizáló baktériumok klorofillok helyett **bakterioklorofill**okat (bakterioklorofill-*a*, -*b*, -*c*, -*d*, -*e*, -*f*, és -*g*) tartalmaznak, melyek közül a bakterioklorofill-*a* a legáltalánosabban elterjedt. Szemben a porfirin-vázas klorofillokkal, a bakterioklorofill-*c*, -*d*, -*e* és -*f* klorin-vázas vegyületek, tehát a porfirin-vázra jellemző 22 π elektron (11 kettőskötés) helyett vázuk csak 20 π elektront (10 kettőskötés) tartalmaz (a IV. gyűrű 7.-8. C-atomja közötti kötés telített), míg a bakterioklorofill-*a*, -*b* és -g bakterioklorin-vázas vegyületek, melyek csak 18 π elektront (9 kettőskötés) tartalmaznak (a II. gyűrű 3.-4. C-C kötése is telített). A bekterioklorofillokra általánosan jellemző, hogy a klorofillokhoz képest hosszabb hullámhossztartományban mutatnak elnyelési maximumot a vörös-távoli vörös hullámhossz-tartományban. A baktériumok azonban nem csak Mg-bakterioklorofillokat használnak fotoszintetikus pigmentekként. Többek között az *Acidiphilium* nemzetségről ismert, hogy Zn-bakterioklorofill-*a*-t használnak fotoszintetikus pigmentekként, ahol a klorin-váz közepén a Mg^{2+}-iont Zn^{2+}-ion helyettesíti.

A klorofillok a fotoszintetikus membránokban sohasem szabadon, hanem ún. klorofill-protein komplexek formájában fordulnak elő.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

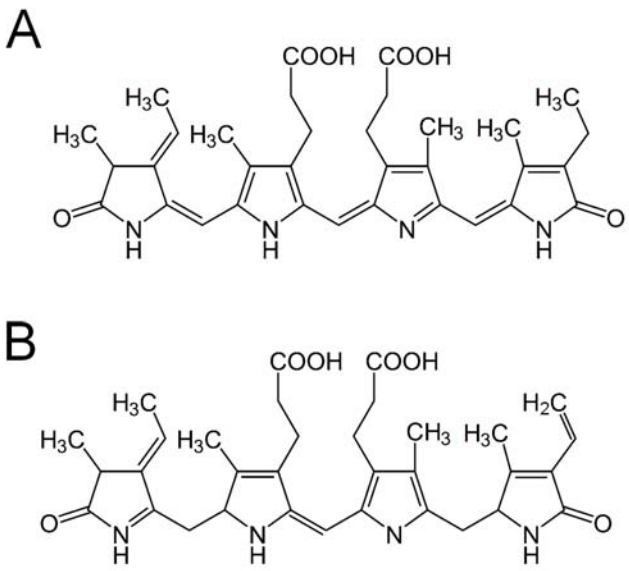


3.1. ábra Porfirin-vázas fotoszintetikus pigmentek. A: klorofill-*a*, B: klorofill-*b*, C: klorofill-*c*, D: klorofill-*d*, E: feofitin-*a*.

3.2.2. Fikobilinek

A fikobilinek a kékbaktériumokra, valamint a Glaucophyta, Rhodophyta és Cryptophyta algákra jellemző fotoszintetikus pigmentek. Négy pirrol-gyűrűből felépülő **lineáris tetrapirroll**ok, a klorofillokkal ellentétben a pirrol-gyűrűk nem kapcsolódnak porfirin- vagy klorin-vázzá össze és fémiont sem komplexálnak. A fikobilinek két típusát: a **fikocianobilin**t és a **fikoeritrobilin**t ismerjük (3.2. ábra). A klorofillokhoz hasonlóan fehérjékhez (fikobiliproteinek) kapcsolódnak, amelyek a membránban elhelyezkedő klorofill-protein komplexekkel szemben szolubilis, vízoldékony fehérjék.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

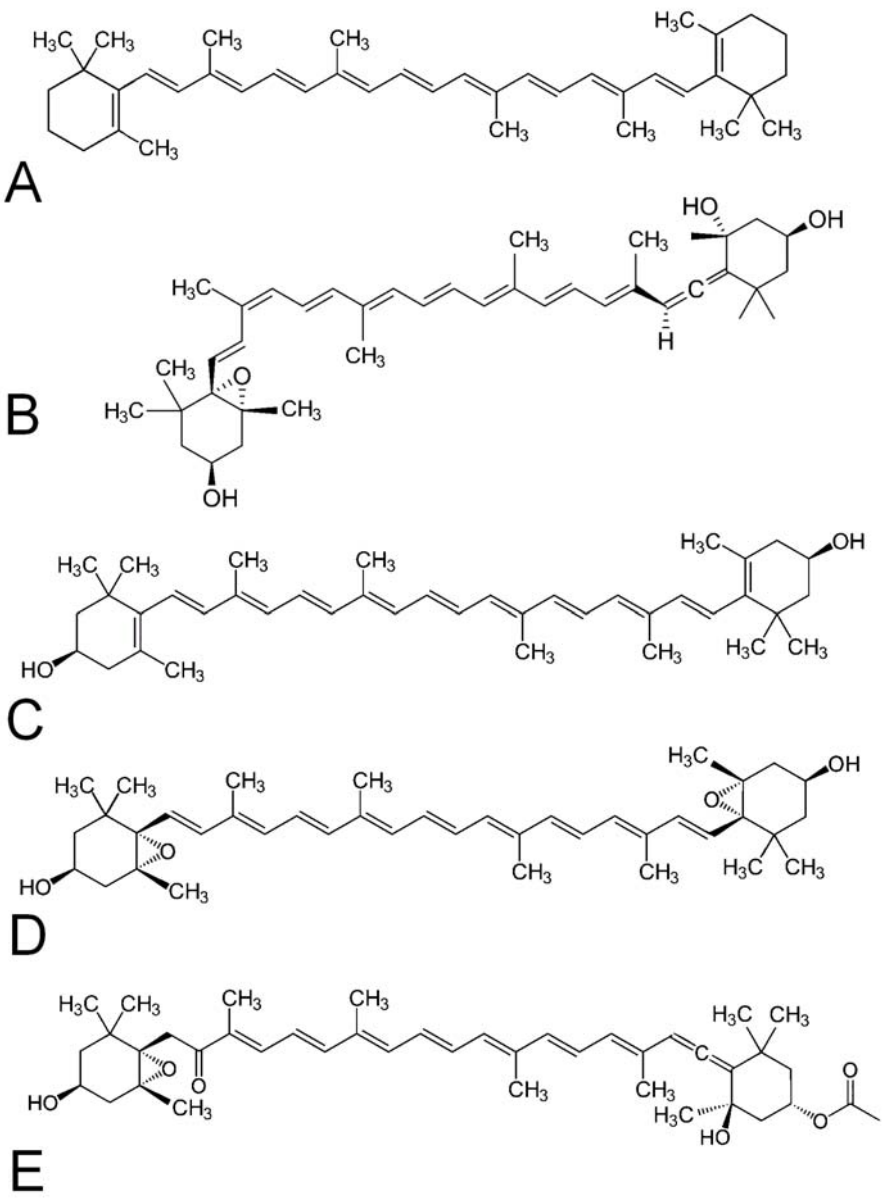


3.2. ábra Lineáris tetrapirroll pigmentek. A: fikocianobilin, B: fikoeritrobilin.

3.2.3. Karotinoidok

A fotoszintetizáló szervezetekben megtalálható harmadik pigment-családot a karotinoidok alkotják. A karotinoidok 40 C-atomból álló izoprén-vázas, konjugált kettőskötés-rendszerrel rendelkező lipid jellegű tetraterpének. Sárgás-vöröses színű vegyületek, számos nem-fotoszintetikus pigment funkciót is ellátnak (5.7.3.7. fejezet). A fotoszintetikus pigmentekként funkcionáló karotinoidokat két fő csoportra bonthatjuk: **karotinok**ra és **xantofillok**ra (3.3. ábra). A karotinok oxigén-atomot nem tartalmazó szénhidrogén-lánccal rendelkeznek, legismertebb képviselőik a *ß*-karotin és a likopin, míg a xantofillok a karotinok oxidált, oxigén-tartalmú származékai, a fotoszintézisben a lutein, a violaxantin, az anteraxantin és a zeaxantin, valamint heterokont algákban a fukoxantin (Phaeophyceae), diadinoxantin, diatoxantin (Bacillariophyceae) és dinoxantin (Dinophyceae) lát el feladatokat. Szerepük a fotoszintézisben elsősorban az elnyelt fényenergiának a klorofillok felé történő továbbításában van, ezen kívül közismert az a funkciójuk is, hogy védik a fotoszintetikus apparátust a fotooxidatív hatásoktól (xantofill-ciklus).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.3 ábra Karotinoid pigmentek. A: β-karotin, B: neoxantin, C: zeaxantin, D: violaxantin, D: fukoxantin.

3.3. A fény abszorpciója

A **fotoautotróf** élőlények a Nap látható hullámhossztartományába eső elektromágneses sugárzásától függenek, melyből évente nagyjából 56×10^{23} J éri el az atmoszféra felszínét. A Föld légköre azonban ennek a sugárzásnak jelentős részét elnyeli és csak kisebb hányada éri el a Föld felszínét. A Nap által kisugárzott fény spektruma az ultraibolyától az infravörös tartományig végig folytonos. Az ultraibolya fénynek csak kis része jut el a Föld felszínéig, mivel a 300 nm alatti hullámhosszakat az oxigén molekulák erősen abszorbeálják és fotokémiai úton ózon képződik belőlük. Az ózon-molekulák viszont a 300–350 nm közötti hullámhosszakat abszorbeálják jól. A Föld felszínét elérő fényenergia fele 400 és 800 nm hullámhosszak közé esik, másik fele az infravörös tartományba. A zöld növények fotoszintetizáló szerveit elérő látható fény a szerv morfológiai és optikai tulajdonságaitól, valamint a fotoszintetikus apparátus felépítésétől és működési állapotától függően különböző mértékben hasznosul a fotoszintézisben. A fotoszintetizáló szerveket elérő fény bizonyos hányada visszaverődik (**reflektálódik**) a szerv felszínéről, vagy elnyelődés (**abszorbeálódás**) nélkül áthalad (**transzmittálódik**) a szöveteken keresztül, így energiája nem hasznosul. A növényi pigmentek egy része nem-fotoszintetikus pigment (pl. antociánok, betalainok), az általuk elnyelt fényenergia szintén nem hasznosul a fotoszintézisben. A **fotoszintetikus pigmentek** által elnyelt gerjesztési energia három fő útra terelődik: egy része (i) **fluoreszcens emisszió** formájában, míg egy másik hányada

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

(ii) **hőkonverzió** formájában vész el, így végső soron a fotoszintetikus szervet érő látható fénynek csak egy csökkent hányada hasznosul a (iii) **fotoszintetikus elektrontranszportlánc** meghajtásában közvetlenül, mely a Föld teljes felszínére vonatkoztatva mintegy 15×10^{23} J energiamennyiséget jelent évente. A környezeti hatások, valamint az élettani folyamatok, úgymint a hőkonverzió, a fluoreszcencia, és a metabolikus energiaveszteség miatt végül ebből évente 3×10^{21} J energia halmozódik fel szerves vegyületekben.

A látható fény, mint elektromágneses sugárzás a hullámhosszával jellemezhető fizikai entitás. Az különböző elektromágnesen sugárzások energiája eltérő – az energia a hullámhosszal fordítottan arányos:

$$E = h \times v = h \times \frac{c}{\lambda}$$

ahol h a Planck-állandó, c az elektromágneses sugárzás terjedési sebessége és λ az elektromágneses sugárzás hullámhossza. Termodinamikai szempontból a fotonok energiájának felhasználásához az abszorbeált energiának legalább akkorának kell lennie, mint a meghajtani kívánt kémiai reakció Gibbs-féle szabadenergiája (G). Mivel a gyakorlatban vibrációs és rotációs folyamatokkal mindig veszít energiát a fényt elnyelő pigment-molekula, az elnyelt foton energiája nagyobb kell, hogy legyen a reakció Gibbs-féle szabadenergiájánál. Mindezek alapján az elnyelt fény által okozott szabadenergia-változás (ΔG) a következőképpen alakul:

$$\Delta G = E = h \times \frac{c}{\lambda} \times N_A$$

ahol N_A az Avogadro-szám. Ennek függvényében a diszkrét hullámhossz-tartományú fotonok abszorpciója által okozott szabadenergia-változás:

$$\Delta G = \frac{119000}{\lambda} [kJmol^{-1} foton]$$

A fotoszintetikus reakciók értelmezéséhez be kell még vezetni az elnyelt energia által okozott elektródpotenciál- (redoxpotenciál-) változást (ΔE) fogalmát, amelyek segítségével kapcsolatot teremthetünk a fotokémiai folyamatok és a redox reakciók között:

$$\Delta E = -\frac{\Delta G}{F}$$

ahol F a Faraday-állandó (a moláris töltések száma). Az elnyelt fényenergia ezért a hullámhossz függvényében változtatja meg a gerjesztett molekula elektródpotenciálját:

$$\Delta E = -\frac{N_A \times h \times c}{F \times \lambda(\mathrm{nm})} = \frac{1281}{\lambda(\mathrm{nm})} [V]$$

Az emberi szem nagyjából a 400 és 700 nm közötti hullámhossztartományt képes érzékelni – ebbe a hullámhossz-tartományba eső fotonok energiáját képesek a magasabb rendű növények is hasznosítani a fotoszintézisben. Ezzel szemben, a fotoszintetizáló baktériumok képesek az infravörös elektromágneses sugárzást is fotoszintézisre felhasználni. Az abszorbeált foton energiája nem szabad olyan nagynak lennie, hogy az abszorbeáló molekulák gerjesztése során azok σ-kötő elektronjai σ* lazító pályára kerüljenek, amely a kovalens kötések felbomlásához és a molekula széteséséhez vezetne. A 350 nm hullámhosszon a fotonok energiája 342 kJ/ mol foton, míg a fotoszintézisben még hasznosítható 1050 nm-es fotonok energiája 114 kJ/mol foton, tehát kisebb a kémiai kötések energiáinál: a víz O-H kötésének felbontása például 465 kJ/mol energiát igényel. A fotoszintetizáló szervezetekben abszorbeált fotonok közvetlenül tehát nem okoznak fotolízist. Energiájuk ahhoz viszont elegendő, hogy kémiai kötéseket lazítsanak fel, és így reakcióképes állapotba hozzák a molekulákat.

A fotoszintetikus pigmentek delokalizált elektronfelhővel rendelkező molekulák, amelyek könnyen gerjeszthető vegyértékelektron-párjai π kötő pályákon helyezkednek el. A molekula energiája főbb tekintetben elektronenergiából, vibrációs energiából (a molekulát felépítő atommagok a vegyértékkötés mentén egy átlagos pozícióhoz képest rezegnek) és rotációs energiából (a molekulák súlypontjuk körül forognak) tevődik össze. Minden elektronenergia-szinthez számos különböző rezgési és forgási energiaszint tartozik, a vibrációs és rotációs energiaszintek különbségei legalább 1-2 nagyságrenddel kisebbek, mint az elektronenergia-szinteké. Minden energiaszint meghatározott és az anyagra jellemző (diszkrét). A molekulák alapállapotban S_0 (**alap szinglet állapot**) energiaszinten helyezkednek

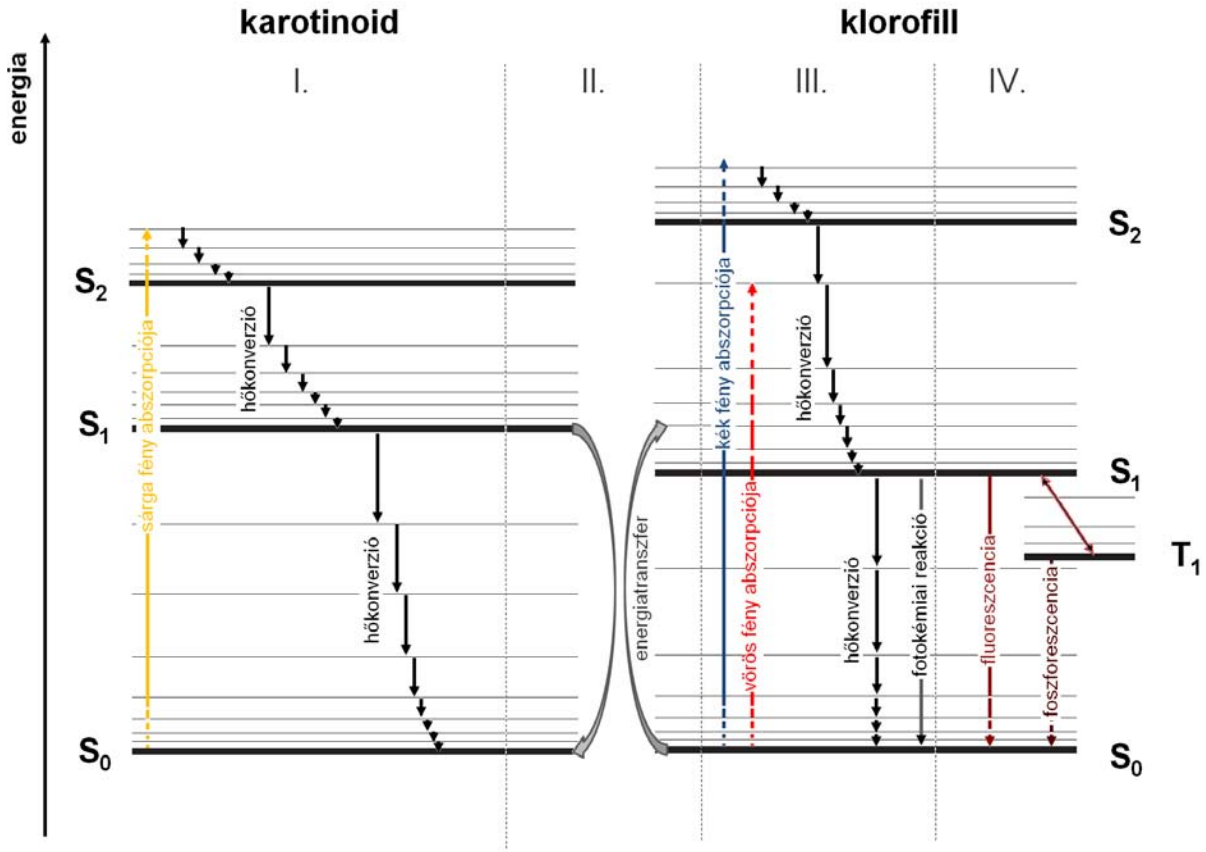
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

el – mely S_0 állapothoz számos, egymáshoz közel eső energiaszint tartozik a molekulapályák energiaviszonyainak megfelelően. A molekulák energiaszintjeinek változásait a Jablonsky-diagram (3.4. ábra) írja le. Összetett molekulák esetében ezek a szintek egymáshoz nagyon közel vannak, ezért nem adnak különálló abszorpciós vonalakat, hanem összemosódnak és széles abszorpciós sáv jelenik meg. Ez a helyzet a fotoszintetikus pigmentek fényabszorpciója esetében is. Fényabszorpciókor a molekula a foton teljes energiáját felveszi és alap állapotából – amely a legalacsonyabb energiájú állapotot jelenti – energiagazdag, gerjesztett állapotba kerül. Gerjesztett állapotban az egyik kötő vegyértékelektron π kötő pályáról π^* lazító pályára kerül. Mivel a molekula energiaszintjei kvantáltak, csak a belső energia átmeneteivel megegyező energiájú fotonok abszorpciójára képes. Az abszorbeált fotonok energiája **gerjesztési energia**ként jelentkezik a molekulákon, melyek így S_1 vagy S_2 energiaszintre kerülnek át, az abszorbeált foton energiájának megfelelően. Klorofillok esetében ez vörös, illetve kék hullámhossztartományba eső fotonok abszorpciójából fakadó energiaszint-különbséget jelöl. Általánosságban elmondható, hogy minél nagyobb a telítetlen kötések száma egy szerves molekula konjugált kötésrendszerében, annál kevesebb energia abszorpciója szükséges az első szinglet állapot eléréséhez. Ennek megfelelően a távoli vörös hullámhossztartomány energiája még elegendő lehet egy klorofill-molekula gerjesztéséhez, míg egy, csupán két konjugált kettős kötéssel rendelkező butadién-molekula gerjesztéséhez energiában sokkal gazdagabb ibolyán túli besugárzás szükséges. A klorofill-molekulákban az abszorpciós tulajdonságokat a tetrapirrol-gyűrűhöz kapcsolódó oldalláncok erősen befolyásolják. Így a korábban említett különbségek, melyek a klorofill-*a* és klorofill-*b* molekulák szerkezetében jelentkeznek, módosítják az abszorpciós spektrumot is. A klorofill-*a* és klorofill-*b* molekulák mindegyikének két abszorpciós sávrendszere van, az egyik a kék, a másik a vörös spektrumtartományban (3.5. ábra). Szemben a klorofillok abszorpciójával, karotinoid típusú fotoszintetikus pigmentek gerjesztése esetében az S_1 állapot elérése a jellemző.

A fény abszopciója gyors folyamat, 10^{-15} s nagyságrend körül mozog az időbelisége. A Pauli-elv értelmében azonos elektronpályán csak két ellentétes spinnel rendelkező elektron tartózkodhat, a spinjét azonban a lazító pályára kerülő elektron is megtartja. S_2 állapotból a gerjesztett molekula hővesztéssel: rotációs és vibrációs kaszkádokon keresztül jut el S_1 állapotba. A molekula a magasabb gerjesztett állapotokból igen gyorsan vibrációs és rotációs energiavesztéssel S_1 állapotba, azaz a legalacsonyabb szinglet gerjesztett állapotba jut, melynek közepes élettartama 10^{-9} s. Mivel a molekulákban a vibrációk periódusa 10^{-13} s, az S_1 állapot élettartama alatt elegendően sok vibrációs periódus zajlik le és elegendő idő áll rendelkezésre, hogy majdnem az összes extra vibrációs energia átadódjon a környezetnek (gyakorlatilag hővé alakul). Emiatt az S_1 állapotú molekulák a magasabb vibrációs alszintekről a legalacsonyabb S_1 vibrációs alszintre kerülnek.

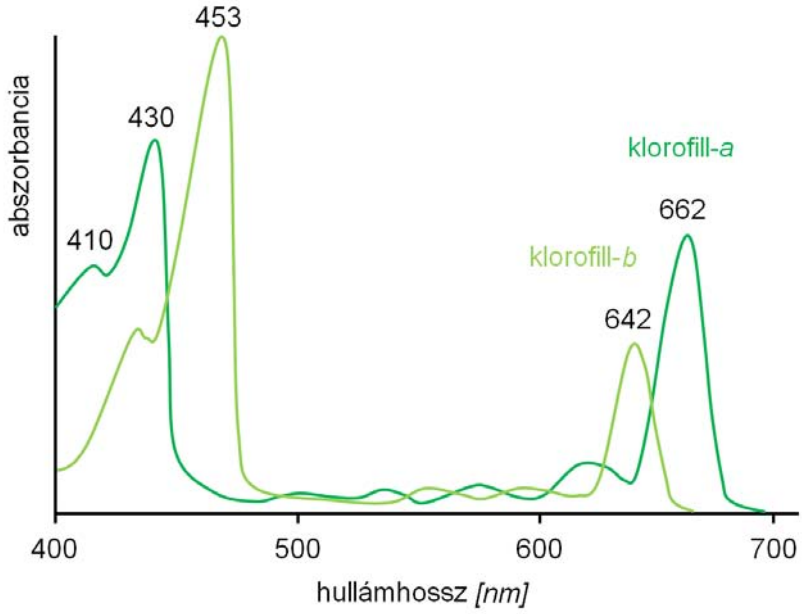
Az $S_1 \rightarrow S_0$ átmenet a molekula minőségétől függően több módon is végbemehet: (i) a gerjesztési energia egyetlen kvantum, formájában, fotonként kibocsátva, melyet **fluoreszcenciá**nak hívunk, illetve (ii) **hőkonverzió**val. Amennyiben a pigment-molekulák nem szabad entitásként, hanem rendszerben foglalnak helyet, a gerjesztés feloldódhat a **gerjesztési energia átadásá**val is. A gerjesztés, illetve a gerjesztési energia elvesztése során a vegyértékelektronok spinje nem változik, azonban kis valószínűséggel S_1 állapotból létrejöhet spin-átforduás (**inter-system crossing**). A molekula így **triplet állapot**ba kerül (T_1). A triplet állapot közepes élettartama több nagyságrenddel nagyobb, mint a szinglet állapoté: 10^{-3} s-tól akár 10 s-ig is terjedhet. A fotoszintetizáló élőlények körében a klorofillok triplet állapotba kerülése stresszélettani jelentőséggel bír (10.4.1. fejezet), hiszen így jelentősen megnő a reakciókészségük az alapállapotban triplet állapotú molekuláris oxigénnel. A két molekula közötti gerjesztési energia transzfer erősen reaktív így az élő szervezet számára különösen veszélyes szinglet oxigén ($^1O_2$) képződését eredményezheti. Triplet állapotból alapállapotba (S_0) a molekula visszatérhet az energia egyetlen kvantum, egy foton kibocsátásával, melyek foszforeszenciának hívunk, vagy újabb inter-system crossing után S_1 állapotból egy fluoreszcens foton emittálásával, melyet az első fluoreszcenciához képesti jelentős időbeli eltolódása miatt késleltetett fluoreszcenciának hívunk.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.4. ábra A molekulák energiaszintjét leíró Jablonsky-diagram. A molekulák diszkrét energiaszintekkel rendelkeznek, melyek közül mindegyik energiaszint fő sávja képviseli az energiaszint legalacsonyabb energiáját. Minden energiaszint további, magasabb energiával jellemezhető rotációs (forgási) és vibrációs (rezgési) alszinttel rendelkezik. Az energiaszintek diszkrétek, ezért az energia-átmenet mindig kvantált. Elektromágneses sugárzás energiáját elnyelve az alapállapotú (S_0) molekula gerjesztett állapotba kerül. A klorofilloknak és a karotinoidoknak két gerjesztett állapota van, melyeket első (S_1) és második (S_2) szinglet állapotnak nevezünk. A gerjesztett molekulák 50-200 fs, majd 200-800 fs idő alatt vibrációs és rotációs átalakulásokkal hő formájában energiát veszítenek, és a legalacsonyabb S_2, majd S_1 állapotba kerülnek. A legalacsonyabb S_1 energiaszintről a molekulák alapállapotba visszatérhetnek 1-200 ps alatt további rotációs-vibrációs energiavesztéssel (karotinoidok; **I.**), vagy 10-40 µs idő alatt, a gerjesztési energia egyetlen kvantum: elektromágneses sugárzás (fluoreszcencia) formájában való kisugárzásával is (klorofillok; **IV.**). Amennyiben két, egymáshoz megfelelő közelségben elhelyezkedő molekula energia-szintjei átfednek egymással, úgy a donor molekula visszatérhet az alapállapotba energiatranszferrel is. Ezzel párhuzamosan az energia-többlet az akceptor molekulán jelentkezik gerjesztési energiaként. Az energiatranszfernek nagy jelentősége van karotinoid- és klorofill-molekulák között (**II.**). A nagyon ritka elektronspin-átfordulási folyamatok során (inter-system crossing) a molekulák szintén energiát veszítenek, amely során S_1-ből T_1 (első triplet állapot) kerülnek. A legalacsonyabb T_1 állapotból szintén visszatérhetnek a molekulák alapállapotba egyetlen foton kibocsátásával – ezt a fénykibocsátást foszforeszenciának nevezzük (**IV.**). Élő rendszerekben nagy jelentősége van a legalacsonyabb S_1 állapotban, energizált állapotban lévő reakció centrum klorofill-*a* molekulák fotokémiai reakciójának (**III.**). A fotokémiai reakció meghajtására a molekula gerjesztési energiája használódik fel. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.5. ábra Szerves oldószerben izolált klorofill-*a* és klorofill-*b* abszorpciós spektruma. Mind a két klorofill mind a kék, mind a vörös hullámhossz-tartományban jelentős elnyelést mutat. A klorofill-*a* elnyelési spektruma a vörös tartományban vörös eltolt, tehát alacsonyabb energia abszorpciójára képes a klorofill-*b*-hez viszonyítva.

3.3.1. Gerjesztési energia átadása

Amennyiben a pigment-molekulák nem szabad entitásként (híg oldatban), hanem rendszerben (a pigment-molekulák kölcsön hatnak egymással) foglalnak helyet, a gerjesztési energiájukat elveszíthetik a **gerjesztési energia átadásá**val is. Az elnyelt energia forrása a foton, a két molekula között átadott energiakvantumot **exciton**nak nevezzük. Ha az S_1 illetve T_1 állapotú klorofillok fénykisugárzással, vagy belső konverzióval térnek vissza alapállapotba, akkor a gerjesztési energia a fotoszintézis számára elvész. Az S_1 vagy T_1 állapotú molekula a gerjesztési energiáját átadhatja egy másik, alapállapotban lévő molekulának. Ekkor az alapállapotban lévő molekula kerül S_1 vagy T_1 állapotba, míg az energiadonor molekula visszatér az alapállapotba. Ezt a jelenséget energiatranszfernek nevezzük. A gerjesztési energia transzfer létrejöttéhez a molekuláknak jól meghatározott távolságban kell lennie egymástól, valamint a donor pigment emissziós (kibocsátási) és az akceptor pigment abszorpciós (elnyelési) spektruma átfedésben kell legyen egymással. A gerjesztési energia átadása két pigment-molekula között két úton mehet végbe: a **Förster-típusú mechanizmus** során a molekulák dipol-dipol kölcsönhatás során cserélik ki a gerjesztési energiát, így egyfajta rezonancia energia-transzferként értelmezhető a jelenség. A **Dexter-típusú mechanizmus** során a gerjesztési energia átadását vegyértékelektron-csere kíséri. Az ilyen jellegű mechanizmus részben a szinglet-szinglet, de különösen a triplet-triplet interakciókat kíséri. A fotoszintetikus pigmentek gerjesztési energia átadási folyamatai Förster-típusú mechanizmussal működnek. Az összetett gerjesztési energia transzfer folyamat végeredményeképpen a donor-molekula visszatér S_0 állapotba, míg az akceptor-molekula S_1 állapotba kerül. Az energiatranszfer kémiailag különböző és azonos molekulák között is lejátszódhat. Ha kémiailag azonos molekulák között történik, akkor a folyamat többször ismétlődhet, azaz egy foton abszorpciója során felvett gerjesztési energia molekuláról molekulára adódhat át, amit energia-migrációnak nevezünk. A kémiailag különböző molekulák (pl. klorofill-*b* → klorofill-*a*) között lejátszódó energiatranszfert az azonos molekulák között (pl. klorofill-*a* → klorofill-*a*) történő energia-migráció is követheti.

Az energiatranszfer nem akármilyen molekulák között képes végbemenni. Energetikai feltétele az, hogy az energiadonor molekula abszorpciós vagy fluoreszcencia spektrumát fedje át az akceptor molekula abszorpciós spektruma. A transzfer hatásfoka annál nagyobb, minél nagyobb mértékű a spektrumok átfedése. Erősen befolyásolja a hatásfokot a transzferben résztvevő molekulák egymástól való távolsága is. A kémiailag különböző molekulák között lejátszódó energiatranszfer közvetlen bizonyítéka a szenzibilizált fluoreszcencia, amelynek lényege, hogy ha a rendszerünkben kétféle pigment-molekula van (pl. D és A) és a gerjesztő fény hullámhosszát úgy választjuk meg, hogy azt kizárólag csak az egyik molekula tudja abszorbeálni (esetünkben ez legyen a D), mégis megjelenik

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

a másik molekula fluoreszcenciája is, amennyiben energia átadási folyamat zajlott le közöttük. Ez csak úgy történhet, ha a D molekulák a gerjesztési energiát átadják az A molekuláknak, melyek ekkor alapállapotból gerjesztett állapotba kerülnek. Az energia-átadás a rövidebb hullámhossznál abszorbeáló molekuláról a hosszabb hullámhossznál abszorbeáló molekula irányába történik. Ellentétben a biokémiai reakciókkal, melyek aktivációs energiát igényelnek, a gerjesztési energia vándorlása független a hőmérséklettől, akár 1 K hőmérsékleten is megfigyelhető jelenség.

Ha összehasonlítjuk a klorofillok szerves oldószerekben felvett abszorpciós spektrumát az *invivo* mérhető spektrummal, azt tapasztaljuk, hogy az abszorpciós maximum *in vivo* a hosszabb hullámhosszak felé van eltolódva és a félérték-szélesség is jóval nagyobb. (Félérték-szélességen az abszorpciós sáv szélességét értjük hullámhossz egységekben kifejezve a sáv maximális intenzitásának felénél mérve). Az *in vivo* tapasztalható sáveltolódás és félérték-szélesség növekedés oka az, hogy a klorofill-molekulák a fotoszintetikus apparátus membrán rendszerének fehérjéihez kötöttek, másrészt az, hogy a lokális nagy klorofill-koncentráció miatt a porfirinek kölcsönhatásba léphetnek egymással és így különböző méretű ún. aggregátumok keletkeznek. A klorofill molekulák egymáshoz való kapcsolódása a porfirin gyűrű közepén elhelyezkedő Mg-atom és a ciklopentanon-gyűrű karbonil-csoportja révén történhet, de kölcsönhatás léphet föl az elektron rendszerek között a Mg^{2+} és a C=O kapcsolódása nélkül is. A pigment asszociátumok abszorpciós sávja mindig nagyobb hullámhosszaknál van, mint a monomer pigmenteké.

A magasabb rendű fotoszintetizáló szervezetek *in vivo* abszorpciós és fluoreszcencia spektrumainak analízise azt mutatja, hogy az élő szervezetben több, kémiailag azonos, de spektrálisan eltérő tulajdonságokat mutató klorofill-*a* és -*b* forma van jelen. Az egyes klorofill-formák bár spektroszkópiai sajátságaikban különböznek egymástól, de ezen kívül fontos funkcionális különbségek is vannak közöttük. A vörös hullámhossz tartományba eső abszorpciós sáv Gauss-komponensekre való bontásával *in vivo* több **klorofill-*a* formá**t sikerült azonosítani, amelyek univerzálisan fordulnak elő az eukarióta fotoszintetizáló szervezetekben. A klorofill-*a* formák közül csak kettő tud a fotoszintézis során fotokémiai reakcióba lépni, melyeket abszorpciós maximumuk alapján P680 és P700 névvel illetünk. A többi klorofill-*a* formának a fény abszorpciójában és energia átadási reakciókban való részvételben van szerepe. A klorofill-*a* formákon kívül vannak klorofill-*b* formák is, melyek közül a fő komponens abszorpciós maximuma 650 nm-nél van. Tekintettel arra, hogy az egyes klorofill-formák abszorpciós Gauss-görbéjének félérték-szélessége kb. 10–15 nm, maximumaik között pedig csak 10–12 nm a különbség, ezek erősen átfedik egymást és így alkotják az egyöntetű vörös abszorpciós sávot.

A fotoszintetikus pigmentek abszorpciós és emissziós spektrumai között az energiatranszferhez szükséges spektrum-átfedés teljes mértékben teljesül. Így tehát a klorofill-*a* mellett előforduló kísérő pigmentekről (klorofill-*b*, a karotinoidok és alacsonyabb rendű fotoszintetizálók között a fikobilin-pigmenteknek) nincs energetikai akadálya annak, hogy a gerjesztési energia átadódjon a klorofill-*a*-nak. Hasonlóképpen, a rövidebb hullámhosszakon abszorbeáló klorofill-formák a hosszabb hullámhosszakon abszorbeálók (alacsonyabb energiával gerjeszthetők) felé adják tovább gerjesztési energiájukat. A fotoszintetikus apparátusban a pigmentek erősen szabályozott helyen és pozícióban foglalnak helyet, a köztük mérhető kis távolság nagy hatékonyságú gerjesztési energia-transzfert tesznek lehetővé. A klorofill-*a*-t kísérő pigmentek által abszorbeált fény tehát csak akkor hasznosulhat a fotoszintézis folyamatában, ha a gerjesztési energia átadódik a klorofill-*a*-nak. A klorofill-*a* molekulákra átadott energia természetesen a különböző klorofill-*a* formák között szintén tovább adódhat a rövidebb hullámhosszú formáktól a hosszabb hullámhosszúak irányába. A jelentős mennyiségben jelen lévő pigmentek által abszorbeált energia így jut el a klorofill-*a*-ra, majd pedig a reakciócentrumokban elhelyezkedő klorofill-*a* formákra. A **reakció centrum**okban lévő klorofill-*a* formák (P680 és P700) energia csapdaként viselkednek, mivel abszorpciós spektrumuk maximuma hosszabb hullámhossznál van, mint a közvetlen környezetükben található más klorofill-*a* formáké, vagy kísérő pigmenteké. A reakciócentrumokban elhelyezkedő klorofill-*a* a teljes klorofill tartalomnak csak kis hányadát (kb. 1 – 2%) képviseli. Mivel a reakciócentrumokban elhelyezkedő klorofill-*a* a klorofill tartalomnak csak 1 – 2%-át teszi ki, a fotoszintetikus apparátus által abszorbeált fényenergiából is csak 1 – 2%-ot nyelnek el. Ahhoz, hogy a gerjesztés hatására a reakciókban bekövetkező ún. fotokémiai reakciók elég gyakran ismétlődjenek, a reakciócentrumokban lévő klorofill-*a* molekuláknak sokszor kell gerjesztett állapotba kerülni. A gerjesztési energia foton formájában történő abszorbeálása egyetlen molekulára vetítve azonban még nagyobb fényintenzitás mellett is ritka eseménynek tekinthető (hiszen minden molekula csak a saját energia-átmeneteinek megfelelő energiájú foton abszorbeálására képes), a fotoszintézis megfelelő működéséhez ezért a fényenergia gyűjtésére, és a reakciócentrumba – a fotokémiai reakció végbemenetelének a helyszínére – történő továbbítása fontos folyamat. A különböző hullámhosszúságú fény elnyeléséért ezért fotoszintetizáló élőlényekben **antennák** a felelősek. **Robert Emerson** és **William Arnold** 1932-ben figyelték meg, hogy a *Chlorella* alga pigmentjei jelentős részének *in vivo* nincs reakciócentrum feladata, és nagyjából 2400 klorofill-molekula gerjesztése szükséges egy O_2- molekula termeléséhez. Az energia transzfer tehát csaknem két nagyságrenddel növeli meg a fotokémiai reakciók gyakoriságát a fotoszintetikus apparátusban. A reakciócentrumok körül a pigment molekulák antennákat

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

képeznek, és bármelyik molekula nyeli is el a fotont, a gerjesztési energia a reakciócentrum felé továbbítódik. A reakciócentrum és az antenna-pigmentek összességét **fotoszintetikus egység**nek nevezzük. A fehér fény fotonjainak legjobb kihasználásához a klorofillok abszorpciója természetesen nem elegendő, így más kisegítő pigmentek: többek között lutein, violaxantin és β-karotin is részt vesznek a fotoszintetikus egység felépítésében. Alacsonyabb rendű fotoszintetizáló szervezetekben (Cyanobacteria, Rhodophyta) a fotoszintetikus egység részei a fikobiliszómákon elhelyezkedő fikobili-pigmentek (fikocianobilin és fikoetritrobilin) is.

3.3.2. A fotokémiai reakció

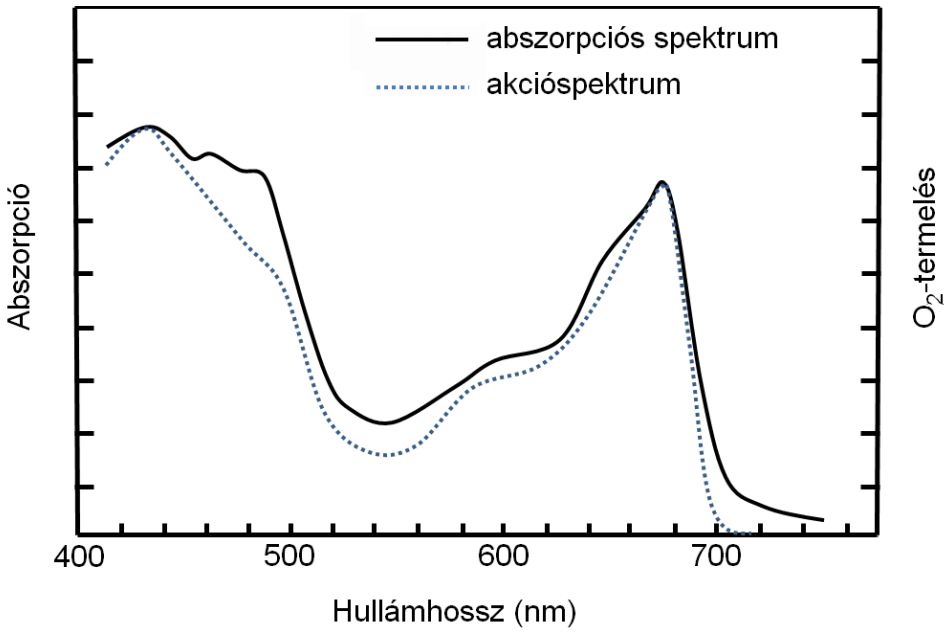
A molekulák által elnyel gerjesztési energia, mint láttuk, változást okoz a molekulák elektródpotenciál-értékében is. Ha egy gerjesztett molekula elektródpotenciál-változása kellően nagymértékű, a gerjesztés hatására π* lazító pályára került vegyérték-elektronját nagy valószínűséggel adja le olyan elektront felvevő (akceptor-) molekula számára, amelynek elektródpotenciál-értéke pozitívabb a gerjesztett pigment-molekulánál. Ahhoz, hogy egy klorofill-molekula fény által katalizált (fotoszenzibilizált) elektrontranszferben (**töltés-szétválás**) vegyen részt, közvetlen kapcsolatban kell, hogy legyen mind az elektrondonor, mind az elektronakceptor-molekulával. Ez a feltétel azonban a klorofill-molekuláknak csak kis hányadánál teljesül. A klorofill-molekulák többsége a fotoszintetikus apparátus membrán rendszerében olyan molekuláris környezetben helyezkedik el, ami nem ad lehetőséget a fotokémiai reakcióban való részvételre. A **fotokémiai reakció**k csak az ún. reakció centrumokban mennek végbe, ahol a molekuláris elrendeződés olyan, hogy a fotoszintetikus elektrontranszportban részt vevő tagok között megtörténhet a fotoszenzibilizált elektrontranszfer. A fotoszintézis szempontjából az S_1 és T_1 szintről történő fotokémiai reakció a fontos.

3.3.3. Két fotokémiai rendszer bizonyítékai

Ha egy fotoszintetizáló objektum elnyelési vagy abszorpciós spektrumát fölvesszük, megtudjuk, hogy milyen pigmentek vannak jelen a benne. Azt azonban, hogy a többféle jelenlévő pigment által abszorbeált fényenergia hasznosul-e a fotoszintézisben, és ha hasznosul, akkor milyen mértékben, csak a működési, vagy **akcióspektrum**okból tudjuk meg (3.6. ábra). Az akcióspektrum egy élettani folyamat, vagy biokémiai reakció intenzitása a megvilágító fény hullámhosszának függvényében. A fotoszintézis akcióspektrumát mutatja meg az oxigén termelésének sebessége a különböző hullámhosszú fénnyel való megvilágítás hatására. Természetesen a különböző hullámhosszú fényt azonos intenzitásokban kell alkalmazni. Az élettani folyamatban részt vevő pigmentek abszorpciós maximumaiknak megfelelő hullámhosszaknál az akcióspektrumban is maximumok jelentkeznek. Az abszorpciós és az akcióspektrum összevetése azt mutatja meg, hogy az egyes pigmenteken elnyelt fényenergia milyen mértékben hasznosul a fotoszintézisben.

A klorofillok fotoszintézisben való részvételének megértéséhez kanyarodjuk vissza Emerson kísérleteihez. **Robert Emerson** (1943) különböző zöldalgák (*Chlorella*, *Navicula*) oxigéntermelése akcióspektrumának felvétele során azt tapasztalta, hogy a 685 nm-nél hosszabb hullámhosszú fényt bár még jól abszorbeálják az algák fotoszintetikus pigmentjei, ez az elnyelt fény az oxigéntermelés szempontjából akkor érthetetlen módon mégsem bizonyult elég hatásosnak. A távoli vörös fény rossz hasznosulása az abszorpciós és az akcióspektrum egymásra fektetése esetén nagyon jól érzékelhető. Az akcióspektrum 685 nm-nél hosszabb fény elnyelésekor meredeken csökken, amely jelenséget **vörös esés** (red drop, Emerson-I.) **effektus**nak nevezték el (3.6. ábra).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

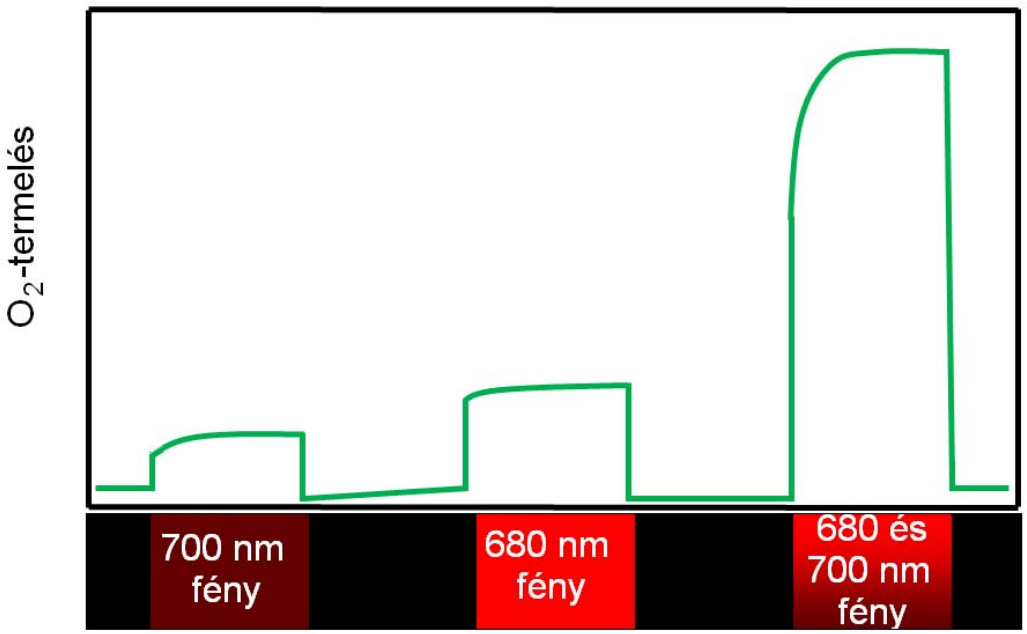


3.6. ábra Egy fotoszintetizáló szövet elnyelési, vagy abszorpciós (folytonos vonal) és akcióspektruma (szaggatott vonal). A két spektrum egymásra fektetése mutatja, hogy nem minden hullámhosszúságú fény működik közre az oxigéntermelésben. Az abszorpciós és az akcióspektrum 680 nm felett élesen elválik egymástól: bár a szövetek a magasabb hullámhossz tartomány felé haladva továbbra is nyelnek el fényt, ez már nem hajtja meg az oxigéntermelést. A jelenséget Emerson-féle vörös esés effektusnak nevezzük.

A vörös esés effektust egészen 1957-ig nem lehetett jól értelmezni. Akkor Emerson és munkatársai újabb rendkívül fontos megfigyelést tettek. A 685 nm-nél nagyobb hullámhosszúságú távoli vörös fény, amely önmagában nem bizonyult elég hatásosnak a fotoszintetikus oxigéntermelésben, hatásosabbá vált, ha egyidejűleg rövidebb hullámhosszú (pl. 650 nm) megvilágítást is alkalmaztak. Emerson és munkatársai meghatározták mind a vörös (650 nm-es), mind a távoli vörös (700 nm-es) fény mellett mért oxigéntermelés intenzitását (P_1 és P_2), ezután a két diszkrét hullámhosszal egyidejűleg világították meg mintájukat, amely a két diszkrét hullámhosszon mért oxigéntermelés összegénél (P_1+P_2) magasabb értéket adott. A jelenséget ma Emerson-féle **erősítési** (enhancement, Emerson-II) **effektus** néven ismerjük (3.7. ábra). Az Emerson-effektusok arra engedtek következtetni, hogy a rövidebb és a hosszabb hullámhosszaknál abszorbeáló klorofill-formák között funkcionális különbségek vannak, két fotokémiai rendszerbe szerveződnek. Emerson kísérleteinek eredményeit megerősítették **Lawrence R. Blinks** és munkatársai által az 1950-es évek elején felismert **kromatikus átmenetek** (chromatic transients): ha két különböző diszkrét hullámhosszat kiválasztva (pl. 650 nm és 700 nm) mindkettő intenzitását úgy állították be, hogy azokkal külön-külön megvilágítva az algákat azonos oxigéntermelési sebességet kapjanak, akkor az egyik hullámhosszról a másikra való hirtelen átváltás esetében jellegzetes sebességváltozásokat detektáltak az algasejtek oxigéntermelésben. Ha az összes klorofill-molekula csupán egyféle fotokémiai rendszert alkotna, akkor ilyen változásoknak nem szabadna bekövetkezni. Az eltérő viselkedés azonban feltételezte, hogy a fotokémiai egységek közül az azok, amelyek nem nyelnek el távoli vörös hullámhossztartományban, közvetlenül részt vesznek az oxigéntermelésben, míg a távoli vörös fény elnyelésére képes fotoszintetikus egységek nem kapcsolódnak közvetlenül az oxigéntermelés folyamatához, a két rendszer között azonban kapcsolat van.

Az azóta eltelt időben a két fotokémiai rendszert sikerült aktív formában izolálni, molekuláris felépítésük, és alegységszerkezetük is jól ismert. A továbbiakban nézzük meg, hogyan is épül fel a fotoszintetikus apparátus molekuláris (fehérje-) szinten.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

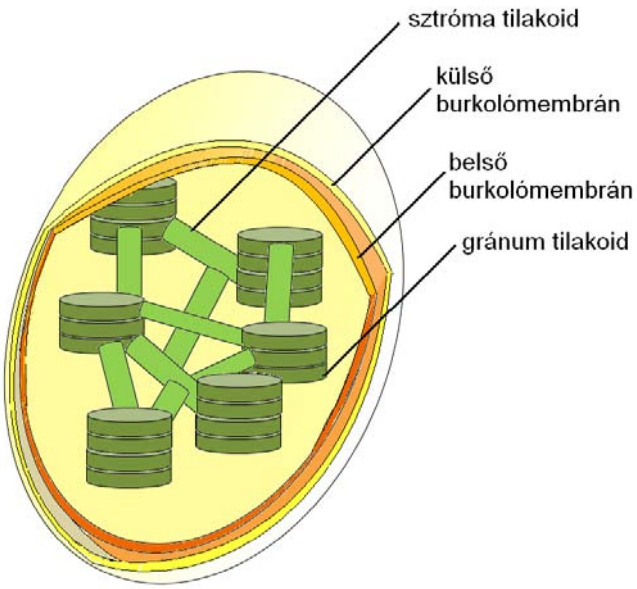


3.7. ábra Az Emerson-féle erősítési effektus. Oxigéntermelő fotoszintetizáló szervezetet távoli vörös (700 nm) vagy vörös (680 nm) fénnyel megvilágítva az oxigéntermelés mértéke alacsonyabb, mint a két hullámhossz (680 és 700 nm) együttes alkalmazásakor.

3.4. A fotoszintetikus struktúrák

A fotoszintetikus pigmentek: karotinoidok és klorofillok a zöld növényi szövetek fotoszintetikusan aktív organellumaiban: a **kloroplasztiszok**ban, a **tilakoidmembránok** pigment-lipoprotein komplexein kötött, strukturált módon helyezkednek el. A kloroplasztiszok a növényi sejt szemiautonóm, cianobaktérium (kékbaktérium, Cyanobacteria) eredetű organellumai, melyek a sejteket, de a teljes növényt (a heterotróf anyagcserét folytató szöveteket is!) szerves szénvázzal és energiával látják el (3.8. ábra). A kloroplasztiszok zárvatermőkben, a legtöbb esetben anyai öröklődésűek, tehát a petesejt **proplasztisz**aitól származnak. A proplasztiszok fény hatására kloroplasztiszokká alakulnak a fotoszintetizáló szövetekben. A plasztiszoknak saját, cianobakteriális eredetű cirkuláris genomjuk van, amely azonban a plasztiszban megtalálható fehérjéknek csak kisebb hányadát kódolja – többek között a fotoszintetikus elektrontranszpotlánc és az ATP-szintézis kulcs-fehérjéit. A kloroplasztiszok a legtöbb magasabb rendű növényben 3–10 µm átmérőjűek, lencse alakúak. Spenót sejtekben számuk 20 és 60 között ingadozik, egyenként és átlagosan 34 μm^3 a térfogatuk. Alacsonyabb rendű növényekben a kloroplasztiszok igen változatos alakúak lehetnek. Számos alga sejtenként csak egyetlen kloroplasztiszt tartalmaz, de létezik olyan is, melyben a kloroplasztiszok száma eléri a 10^7 nagyságrendet is (pl. *Acetabularia mediterranea*).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.8. ábra A kloroplasztiszok vázlatos felépítése. A kettős burkolómembránnal körbevett endoszimbionta eredetű kloroplasztiszok gazdag belső membránrendszerrel, úgynevezett tilakoidmembránokkal rendelkeznek, a melyek a kloroplasztiszok fotoszintetikus membránstruktúrái. A tilakoidok korongszerűen összefekvő gránum, és az azokat összekötő sztróma tilakoidokra bonthatóak.

A kloroplasztiszokat kettős membrán határolja (**burkolómembrán**ok), melyen belül a teret **sztróma** (a plasztisz citoplazmája) tölti ki. A külső és belső borítómembrán 6 nm vastagságú, melyek között 10–20 nm széles (intermembrán) rés található. A belső borítómembrán szabályozza a kloroplasztiszokba és a kloroplasztiszokból történő metabolitok transzportját, míg a külső borítómembrán erősen permeábilis igen sok kis molekulatömegű anyagra nézve. A sztrómába ágyazva helyezkedik el a kloroplasztisz belső membránrendszere, melyet **Wilhelm Menke** 1960-ban **tilakoid**oknak nevezett el (zsákszerű [gör.]). A tilakoidmembránok helyenként szorosan egymáshoz tapadva hozzák létre a gránumokat. Egy-egy gránumhoz több sztróma tilakoid is csatlakozik, spirociklikus elrendeződésben. A kloroplasztisz tilakoidjai összefüggő üregrendszert képeznek, melyet lumennek nevezünk. A lumen tere homológ a két burkolómembrán közötti térrel (a tilakodmembránok mind filo- mind ontogenetikusan a belső burkolómambrán betűrődésével jönnek létre), tehát kvázi külvilágnak tekinthető. A kloroplasztisz sztróma tartalmazza a szén-dioxid redukciós ciklus enzimei mellett sok más anyagcsere-folyamatért felelős enzimet. Itt található a kloroplasztisz genom is, nagyjából 30 kópiában, és a saját autonóm fehérjeszintézishez szükséges 70 S riboszómák is. Ezeken kívül a sztrómában találhatók a fotoszintetizáló szövet tartalék tápanyagául szolgáló **keményítőszemcsék** és a **plasztoglobulusok**: a degradálódott tilakoidok lipidekből és plasztokinonból álló maradványai is. A tilakoidrendszer egy dinamikus szerkezet. Hosszabb ideig fennálló környezeti eltérések a tilakoid komplexek felépítésének (antenna struktúra) és arányainak változását indukálják akklimatizációs változások révén.

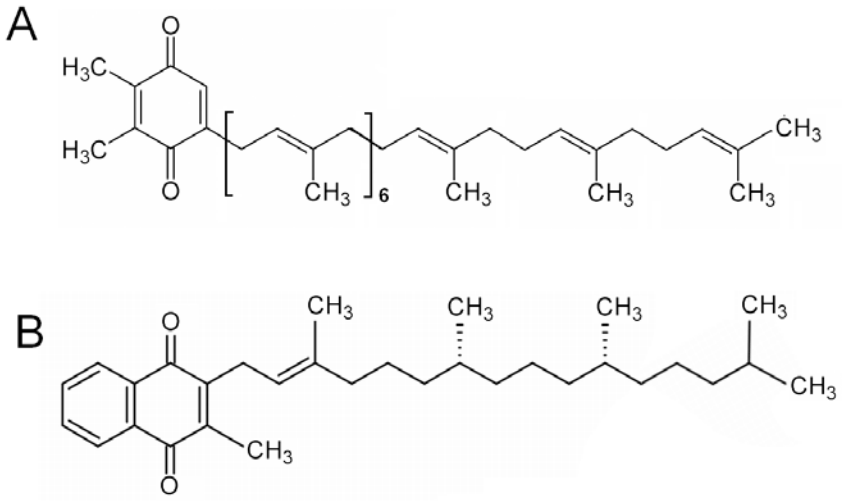
A magasabb rendű növények kloroplasztiszaitól eltér a cianobaktériumok és vörösalgák kloroplasztiszainak és tilakoidjainak szerkezete. Bennük a tilakoidok nem tapadnak egymáshoz, felszínükön pedig **fikobiliszómák** találhatók. A fikobiliszómák nagyjából félgömb alakú struktúrák, melyeknek átmérője nagyjából 60, magasságuk 30 és vastagságuk 10 nm. A fikobiliszómák a fikobiliproteinek és kötő proteinek szupramolekuláris komplexei. A magasabb rendű növények tilakoidmembránjaihoz a cianobaktériumokénál jobban hasonlítanak a *Prochloron*-fajoktilakoidjai. A *Prochloron*-fajok oxigént termelő prokarióta szervezetek, melyben a klorofill-*a* mellett megtalálható a klorofill-*b* is, tilakoidjaik pedig kapcsolt és nem kapcsolt régiókat egyaránt tartalmaznak.

A fényenergia kémiai energiává konvertálása a tilakoidmembránokban megy végbe, melyekben a fotoszintetikus pigmentek ún. **fotoszintetikus egység**et alkotnak. A fotoszintetikus egységek központjában a fotokémiai rendszerek reakciócentrumaiként funkcionáló klorofill-*a* dimerek foglalnak helyet, melyek a saját fotoszintetikus egységükben a legmagasabb hullámhossztartományban abszorbeálnak, így a gerjesztési energia transzfer a fotoszintetikus egységben feléjük irányul. A folyamatok lebonyolításához szükséges proteinkomplexek az I. és II. fotokémiai rendszer (**PSI** és **PSII**), valamint a citokróm (**Cit**) b_6f komplex és az ATP-szintáz, melyekhez egyéb, működésben fontos proteinek kapcsolódnak. A lumenben a plasztocianin (**Pc**), a sztrómában pedig a ferredoxin (**Fd**) valamint a Fd:NADP oxidoreduktáz (**FNR**) társulnak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.4.1. A fotoszintetikus apparátus nem-pigment kofaktorai

A fotoszintézis működésében nagy szerepe van a membránokban megtalálható kinon típusú vegyületeknek. Magasabb rendű növények kloroplasztiszaiból két kinont: a bezokinon típusú **plasztokino**t (PQ) és a naftokinon típusú **fillokinon**t (FQ, K-vitamin) lehet kimutatni (3.9. ábra). Mitokondriumokban analóg szerepet tölt be az ubikinon, amely plasztiszokban nincs jelen. Mindkét kinon fejcsoportjához izoprén-oldallánc kapcsolódik (a FQ esetében ez az oldallánc ugyanolyan fitol-csoport, mint a klorofill-*a* esetében), ezért a szintén izoprenoid karotinoidokhoz és a klorofillok fitol-oldalláncához hasonlóan apoláros tulajdonságú vegyületek, és a membránban helyezkednek el. Mind a PQ, mind a fillokinon egy elektron felvételével szemikinonná, két elektron felvételével pedig plasztokinollá/fillokinollá (alkohol jellegű vegyületek) tudnak alakulni, ezért a redukáló kapacitás (tehát az elektronok) szállításában van szerepük. A PQ csak részben kapcsolódik a II. fotokémiai rendszerhez, legnagyobb mennyiségben a tilakoidmembránban szabadon fordul elő. A membránban a diffúziós sebessége 5 x 10^{-8} cm^2 s^{-1} körüli érték.

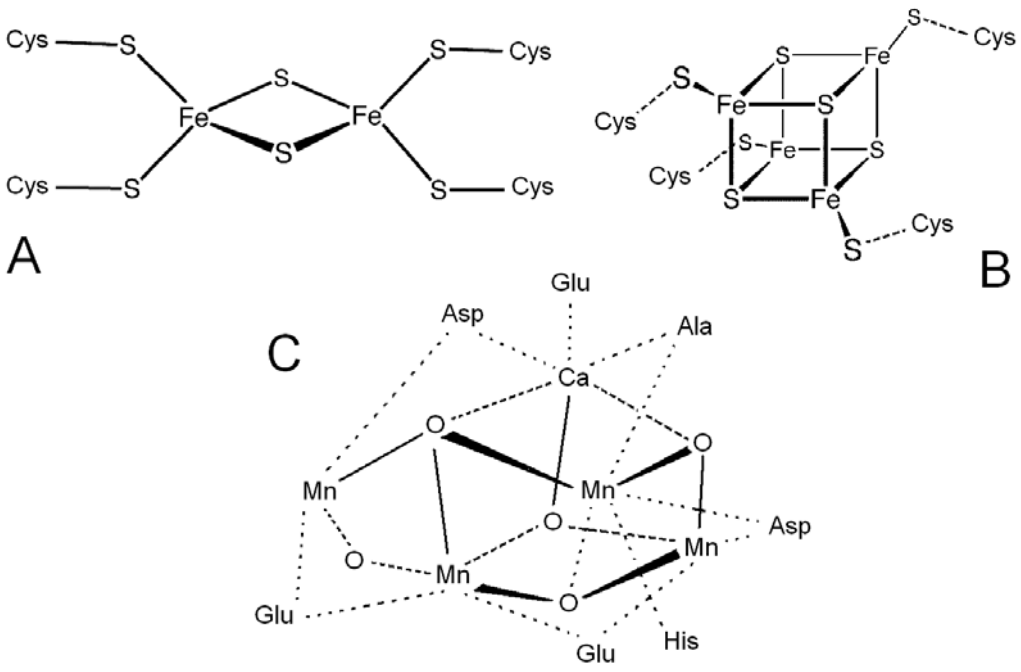


3.9. ábra A tilakoidmembránban megtalálható kinon-vegyületek. A: plasztokinon, B: fillokinon.

A fotoszintetikus apparátus felépülésében és működésében a szerves molekulákon felül nagy szerepe van a különböző fémtartalmú kofaktoroknak is. A PSII core complex lumen felőli oldalán található meg a PsbO protein, amely egy máig nem pontosan ismert szerkezetű fém-kofaktort köt. A PsbO a víz bontásában és az oxigéntermelésben szerepet játszó folyamatoknak ad helyet, a vízbontó komplex reakciócentruma pedig a **Mn-komplex**: egy Mn_3CaO_4 kuboid, kockaszerű szerkezetként értelmezhető kofaktor a 3,0 Å felbontás alapján (3.10. C ábra). A $Mn^{2+/3+/4+}$ ionok kulcsfontosságú szerepet töltenek be a vízbontó centrum felépítésében és működésében, így a centrum felépülésének zavara a teljes PSII komplex működését gátolja. A negyedik Mn-ion a centrumhoz kívülről kapcsolódik egy oxid-sarkon keresztül, mely a Ca^{2+} ionhoz közel lokalizált. A Mn_4Ca szerkezet képezi a centrum katalitikusan aktív helyét. A Ca^{2+} ion jelenléte a centrumban a Mn-nal szemben inkább strukturálisnak tűnik. Szerepe lehet még az O-O kötés kialakításában, azonban más, kétértékű kationokkal helyettesítve a komplex megőrizheti működőképességét.

A fotoszintetikus apparátus felépülésében szerepet játszó másik nagy fém-tartalmú kofaktor-család a **vas-kén centrum**oké (3.10. A, B ábra). A vas-kén centrumoknak, a kinonokhoz hasonlóan, a redukáló kapacitás, tehát az elektronok szállításában és tárolásában van szerepük. Az apoproteinek cisztein-oldalláncaihoz koordinációs vagy kovalens kötéssel kötődnek a centrumok vas-ionjai, melyek egymáshoz S-hidakon keresztül kapcsolódnak. A vas-kén centrumok két legfőbb előfordulási formája a Fe_2S_2 és a Fe_4S_4 összetételű centrumok, melyekben a vas töltése 2+ és 3+ lehet, azonban a töltések megoszlanak a vas-ionokon (az egyes vas-ionokhoz nem lehet egész töltés-értékeket rendelni). A kinonoktól eltérően a vas-kén centrumok egy elektron felvételére és továbbítására képesek. A vas-kén centrumok az azokat körbevevő apoproteintől függően változó redoxpotenciállal rendelkeznek.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.10. ábra A fotoszintetikus elektrontranszportlánc működésében szerepet játszó fém-kofaktorok. A: Fe_2S_2 centrum, B: Fe_4S_4 centrum, C: Mn centrum.

3.4.2. Klorofill-protein komplexek

A magasabb rendű növények kloroplasztiszainak tilakoidjaiból többféle **klorofill-protein komplex**et (pontosabban klorofill-karotinoid-lipoprotein komplexet) lehet kimutatni. A fotokémiai rendszerek klorofill-protein komplexekből: a reakciócentrumból, szorosan kapcsolódó (proximális) antennából és más kisebb, nem-pigmentkötő proteinekből felépülő központi (core) részből, valamint az azt körülvevő, lazábban kapcsolódó (disztális) antennarégióból állnak. A klorofill-protein komplexek egy részében a klorofillok közül kizárólag klorofill-*a* fordul elő.

A reakciócentrumokat és a belső antennákat csak klorofill-*a*-t tartalmazó klorofill-protein komplexek alkotják (core). Ezek a fehérjék a plasztiszok saját genomjában kódoltak, szintézisük a kloroplasztiszok riboszómáin történik. A klorofill-protein komplexek más részében a klorofill-*a* mellett klorofill-*b* is megtalálható eltérő arányokban. Ezek az ún. klorofill-*a*/*b* proteinek a reakciócentrumok körül kiépült fénygyűjtő antenna rendszerek felépítésében vesznek részt. A klorofill-*a*/*b* proteinek sejtmagban kódoltak, a citoplazma ribószómáin szintetizálódnak, és innen jutnak be a kloroplasztiszokba, ahol utólag kerülnek rá a klorofill-*a* és -*b* molekulák. A fotoszintetikus apparátus evolúciójának későbbi termékei, mint a reakciócentrumok. A két fotokémiai rendszer klorofill-tartalmának körülbelül 60%-a a PSII-ben, 40%-a pedig a PSI-ben található. A klorofill-protein komplexeket többféleképpen lehet csoportosítani, de általában négy fő csoportot szoktak megkülönböztetni. Ezek a következők:

1. Core complex I az első fotokémiai rendszer (PSI) reakciócentrumát tartalmazza

2. Light harvesting complex I (LHCI), amely a PSI fénygyűjtő klorofill-protein komplexe

3. Core complex II amely a második fotokémiai rendszer (PSII) reakciócentrumát tartalmazza, a hozzá tartozó antennákkal

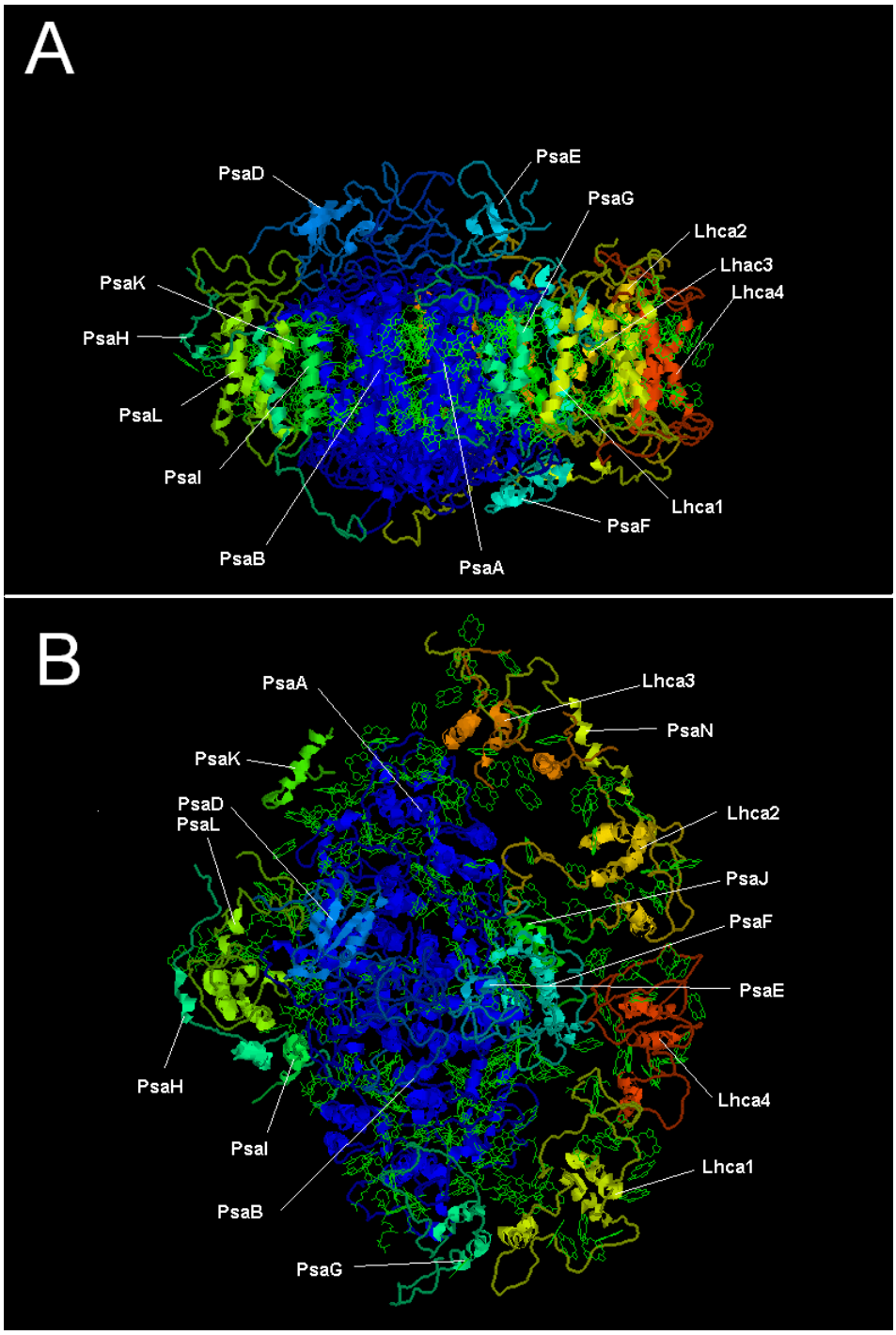
4. Light harvesting complex II (LHCII), ami a PSII fénygyűjtő klorofill-protein komplexe.

Core complex I. Ez a klorofill-protein komplex az első fotokémiai rendszer (PSI) központi, főleg klorofill-proteinekből felépülő komplexe (3.11. ábra). A komplexben mintegy 100 klorofill-*a* molekula, 22 ß-karotin és egy P700 klorofill-*a* dimer található. A kloroplasztisz genom két, egymástól kissé különböző gént tartalmaz a reakciócentrum apoproteinjére (*PsaA* és *PsaB*), melyek aktív dimerként fordulnak elő. Így a komplex tulajdonképpen

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

heterodimer, az apoproteinek külön-külön egyenként nagyjából 40-50 klorofill-*a* molekulát tartalmaznak. Közösen kötik azonban a P700-at, ami egy klorofill-*a*-*a*' dimer (reakciócentrum). Az egyes apoproteinek funkcionálisan két doménre bonthatóak: a reakciócentrum doménre, amelyek a heterodimerben közösen hozzák létre a komplex reakciócentrumát, valamint egy-egy belső antenna doménre, amely a klorofill-tartalom nagy részét tartalmazza. A pigenteken felül a komplexben 3 vas-kén (Fe_4S_4) centrumot (F_X, F_A, F_B) és 2 fillokinont és 4 lipidet (1-foszfatidil-glicerol, 3-digalaktozil-diacil-glicerol) azonosítottak. Sokáig úgy gondolták, hogy a vas-kén centrumok csak a már tilakoidmembránban helyet foglaló apoproteinekbe épülnek be, de az újabb adatok a sztrómában történő beépülést valószínűsítik. A core complex I több, kisebb, pigmentet nem tartalmazó proteint is tartalmaz, amelyek szerepe részben a struktúra kialakulásának biztosítása, részben a funkció (pl. LHCII kapcsolódása: PsaH) Alacsonyabb rendű fotoszintetizálókban (cianobaktériumok) a core complex I trimerizálódhat, ez magasabb rendű növényekben nem jelenik meg. A kis molekulatömegű fehérjék közül egyesek klorofill-*a*-t kötve az energia transzferben is szerepet játszanak (PsaH,J,K,L,M,X), de stabilizálják is a core complex I szerkezetét, valamint a külső antennát a központi részhez (PsaG,K) kapcsolják.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.11. ábra Az I. fotokémiai rendszer (PSI) komplex-szerveződése a (A) membrán síkja felől, illetve (B) a membrán síkjára merőleges nézetben. A Psa-fehérjék alkotják a core complex I-et, melyből a reakció centrumot az ábrán kék megjelenített PsaA-PsaB heterodimer fehérjeláncok hordozzák. Az Lhca-fehérjék dimereket alkotva képezik a disztális fénygyűjtő antenna rendszert (LHCI). A komplex LHCI-dimerekkel ellentétes oldalán, a PsaH alkotja az LHCII dokkolási felszínét. A pigment-protein komplexek között klorofill-molekulák porfirin-gyűrűkkel jelennek meg.

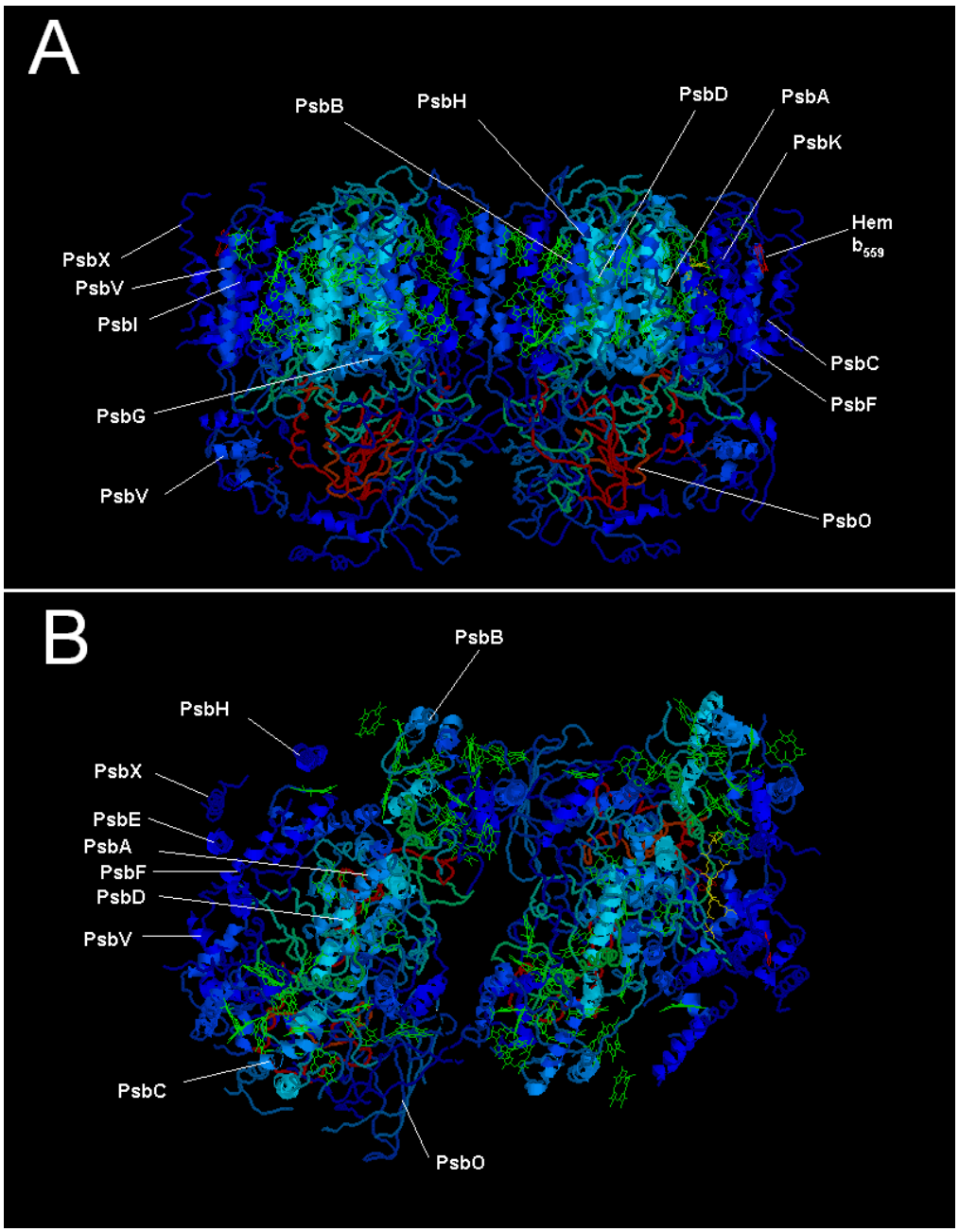
LHCI. Ezek a klorofill-protein komplexek az PSI perifériás fénygyűjtő antennái (3.11. ábra). Magasabb rendű növényekben számos, az Lhc-családba tartozó klorofill-*a*/*b* proteint sikerült kimutatni, melyek közül az LHCI felépítésében az Lhca1, Lhca2, Lhca3 és Lhca4 vesznek részt. Az LHCI kétféle komplexből épül fel, melyeket fluoreszcencia maximumuk alapján (LHCI-680 és LHCI-730) is megkülönböztethetünk. Az LHCI-680 felépítésében az Lhca2 és Lhca3 proteinek vesznek részt, míg az LHCI-730 az Lhca1 és Lhca4 proteinekből áll. Az Lhca proteinek egyenként 10 klorofill-molekulát, és változó számú karotinoidot kötnek. Az LHCI-ben ellentétben a core complex

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

I-el nemcsak klorofill-*a*, hanem klorofill-*b* is van, egymáshoz viszonyított arányuk kb. 3,5:1. A core complex I-gyel együtt a tilakoidok összes klorofill mennyiségének mintegy 30%-át tartalmazzák.

Core complex II Ebben a klorofill-protein komplexben (3.12. ábra) található a második fotokémiai rendszer (PSII) fotokémiailag aktív klorofill-*a* formája, a P680. A core complex II-ben hét olyan fehérje található, melyekhez klorofill kapcsolódik. A PSII reakciócentrumában helyezkedik el a D1 és D2 heterodimer fehérje (*PsbA* és *PsbD* gének termékei). Ez a két fehérje együtt köti a P680 klorofill-*a*-t. Alegységenként egy-egy további klorofill-*a* és feofitin-*a* struktúrastabilizáló szerepet tölt be, és további 2 perifériásan kötődő klorofill-*a* az antennákról való energiatranszfer irányításában játszik szerepet. A komplexben 2 β-karotin is megtalálható. A komplex fontos akceptor oldali kofaktorai az elsődleges (Q_A) és a másodlagos (Q_B) kinon akceptorok, melyek tulajdonképpen a core complexhez kötődő plasztokinon-molekulák, valamint egy nem-hem Fe-atom. E két fehérjéhez közvetlenül kapcsolódik egy-egy protein, amelyek szintén csak klorofill-*a*-t tartalmaznak (molekulatömegük alapján CP43 és CP47). E két protein a PSII belső fénygyűjtő antennájaként működik. A CP43 13 klorofill-*a* mellett 5 *β*-karotint, míg a CP47 16 klorofill-*a* mellett 3 *β*-karotint tartalmaz. A D1 és D2 fehérjék strukturális homológiát mutatnak a PSI core complex reakciócentrum doménjével, míg a CP43 és CP47 a belső antenna doménekkel mutat homológiát. A core complex II nagyszámú, kis molekulatömegű, pigmentet nem kötő fehérjét is tartalmaz. Többségük szerepe mindezidáig nem tisztázott. A lumen felőli oldalhoz kapcsolódnak a vízbontó apparátust hordozó PsbO-Q fehérjék (cianobaktériumokban a PsbO, PsbU és PsbV fehérjék). A donoroldali kofaktort a négy Mn-és egy Ca-ionból álló Mn-centrum alkotja (**vízbontó komplex**). A vízbontáshoz szükséges Cl-ionokat egy hidrofil fehérjékből álló, ún. reguláló sapka biztosítja (PsbO,P,Q,R). A PSII reakciócentrumban megtalálható egy citokróm (Cit) b_{559} (PsbE,F) alkomplex is (a citokrómokról és a kofaktoraikról ld. részletesebben: a Cit b_6/f komplexet!). Részt vesz a PSII ciklikus elektrontranszportjában, amely a PSII egyik fontos relaxáló mechanizmusa lehet gátolt elektrontranszport esetén, ezért a fényvédelemben van szerepe. A magasabb elektródpotenciállal rendelkező (HP-) Cit $b_{559,}$ szuperoxid anion oxidáz aktivitása révén, szerepet játszhat a szuperoxid eltávolításában, így a PSII oxidatív károsodások elleni védelmében is. További három fehérje: az Lhcb4 (molekulatömege alapján CP29), Lhcb5 (CP26), Lhcb6 (CP24) szintén a PSII antennájaként működnek, de perifériásabban helyezkednek el, mint a CP43 és CP47. A CP29 12 klorofillt és 3 xantofillt, a CP26 10 klorofillt és 3 xantofillt, míg a CP24 10 klorofillt és 2 xantofillt tartalmaz. A klorofill *a*/*b* arány a CP26 és CP29 esetében 3 körüli, míg a CP24-ben 0,9-1,6 körüli érték. A CP24, CP26 és CP29 klorofill-protein komplexeket összefoglaló néven kapcsolóantennáknak (connecting antennae) hívjuk. A PSII felépítésében fontos szerepe van a PsbS proteinnek is (CP22), amely rokonságot mutat az Lhc-fehérjékkel (3 helyett 4 *α*-hélixet tartalmaz a struktúrája). 5 klorofill-molekulát (a klorofill *a*/*b* aránya 6), emellett luteint és xantofillokat köt. Az antennákkal ellentétben a szerepe azonban nem elsősorban a fény begyűjtése, hanem a PSII túlzott gerjesztéssel szembeni védelme: magas fényintenzitás mellett az antennák által összegyűjtött gerjesztési energiát hőenergiává alakítja (’kioltó centrum’), ezáltal védi a reakciócentumot a fotokémiai károsodásoktól. A core complex II a PSII reakciócentrumát a szorosan hozzá tartozó ún. proximális antennával együtt tartalmazza. A core complex II az összes klorofill-tartalomnak mintegy 20%-át képviseli. A D1és D2, valamint a CP43 és CP47 apoproteinjeinek (tehát a csak klorofill-*a*-t tartalmazó fehérjék) genetikai kódja a kloroplasztiszban van, míg a core complex II klorofill-*a*/*b* proteinjeinek, a kapcsolóantennák kódja a sejtmagban található. Magasabb rendű növényekben a core complex II aktív dimerként van jelen.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

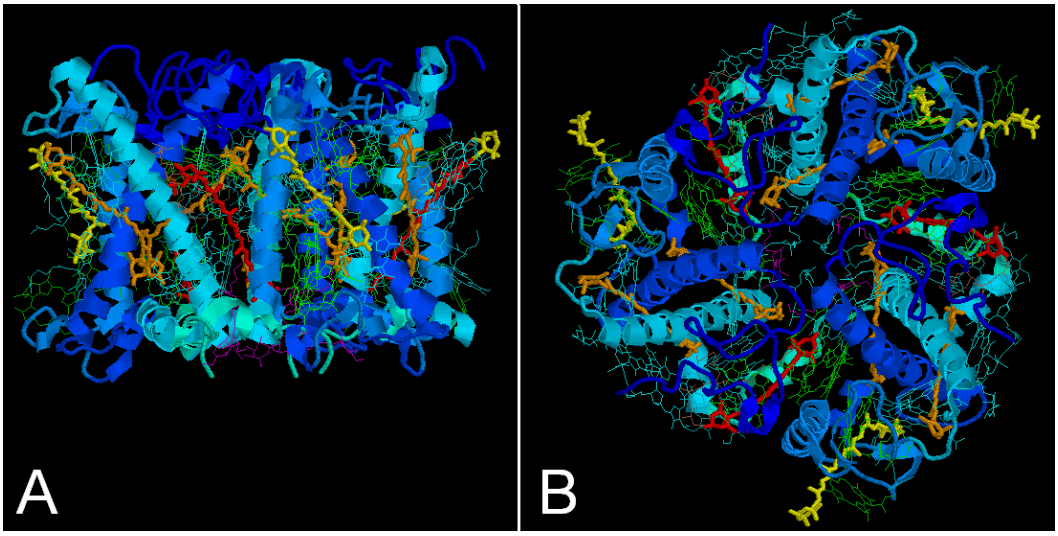


3.12. ábra A core complex II (II. fotokémiai rendszer) felépítése, (A) a membrán síkja felől és (B) a membrán síkjára merőleges nézetben. A core complex II tilakoidmembránokban aktív dimerként van jelen. A core complex II reakció centrumát a PsbA-PsbD heterodimer köti. A core complex II által kötött klorofill-*a* molekulák a poririn-vázaikal kerültek megjelenítésre. A pigmenttartalom döntő hányadának kötéséért a PsbB (CP47) és PsbC (CP43) fehérjeláncok felelősek.

LHCII Ez a klorofill-protein komplex a PSII legnagyobb mennyiségben előforduló fénygyűjtő komplexe (3.13. ábra). Ez tartalmazza az összes klorofill- és a tilakoid-proteinek felét. Felépítésében az Lhcb1, Lhcb2 és Lhcb3 proteinek vesznek részt. Az LHCII a tilakoidokban trimer formában van jelen. A trimerizációhoz szükséges aminosav-szekvenciát (WYGPDR) az Lhcb1-3 fehérjék N-terminális szakasza tartalmazza. Meglepő módon az Lhcb5 (CP26), amely monomerként van jelen a tilakoidmembránban, szintén hordozza ezt a motívumot. Az LHCII szerepe nemcsak a fény begyűjtésében és a reakciócentrum felé történő továbbításában van, hanem a tilakoidok gránumokká való összetapadásában is: a két gránummembránban elhelyezkedő LHCII-trimerek elektrosztatikus kötésekkel stabilizálják a gránumszerkezetet. A klorofill *a*/*b* arány ebben az LHCII-trimerekben nagyjából 1:1, és fehérjemolekulánként átlagosan 14 klorofill-molekula kötődik rajtuk. A klorofillokon kívül lutein-, és különböző xantofill-molekulákat is (neoxantin, violaxantin, anteraxantin, zeaxantin) tartalmaznak. Összesen 4 karotinoid-

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

molekula kötőhelyük van, amelyből kettőn lutein, egyen neoxantin, egy helye pedig violaxantin/anteraxantin/zeaxantin kötődik. Az LHCII apoproteinek a sejtmagban kódoltak és a citoplazmában szintetizálódnak, majd onnan kerülnek be a kloroplasztiszokba, az LHCI apoproteinekhez és az egyéb klorofill-*a*/*b* apoproteinekhez hasonlóan. A trimerek egy része, az ún. mobilis LHCII magas fényintenzitásnak kitéve a fotoszintetizáló szövetet foszforillálódik egy Lhc kináz enzim működése folyamán. A foszforillált LHCII konformációt vált és ledisszociál a PSII-ről. A konformáció-váltás miatt a gránumok kapcsoltsága is megszűnik így azok sztrómatilakoidokká alakulhatnak. A foszforillált LHCII azonban képes a PSI core complexéhez kötődni (a PsaH proteinen keresztül), így az általa elnyelt gerjesztési energiát a PSI reakció centruma felé továbbítja. A folyamatot state-tranzíciónak nevezzük, és a fényenergia megoszlásának változását okozza a fotoszintetikus rendszerben.



3.13. ábra Egy LHCII trimer szerkezeti felépítése, (A) a membrán síkja felől és (B) a membrán síkjára merőleges nézetben. Az LHCII trimereket felépítő Lhcb-fehérjék fő szerkezeti eleme a három membránon átérő α-hélix. Az LHCII trimerek számos klorofill- és karotinoid-molekulát kötnek: megtalálható bennük a klorofill-*a* (kékeszöld színnel jelölve), a klorofill-*b* (zöld színnel jelölve), a lutein (piros), a neoxantin (sárga) és violaxantin/anteraxantin/zeaxantin (narancssárga).

3.2. táblázat A tilakoidmembránok fontosabb pigment-lipoprotein komplexei, és a fotoszintetikus pigmentek megoszlása. C: kloroplasztiszban kódolt apoprotein, N: sejtmagban kódolt apoprotein.

protein	molekulatömeg [kDa] (transzmembrán α-hélixek száma)	gén (kódolás helye)	fotoszintetikus pigmentek (számuk)
PSII			
PsbA (D1)	38 (5)	*PsbA* (C)	P680 (1) klorofill-*a* dimer
+			klorofill-*a* (2)
PsbD (D2)	29 (5)	*PsbD* (C)	(transz) β-karotin (2)
			I (1) feofitin-*a*
			feofitin-*a* (1)
			klorofill-a_Z (2) klorofill-a
PsbB (CP47)	56 (6)	*PsbB* (C)	klorofill-*a* (16), all-transz-β-karotin (3)
PsbC (CP43)	50 (6)	*PsbC* (C)	klorofill-*a* (13), all-transz-β-karotin (5)
CP29	29 (3)	*Lhcb4* (N)	klorofill-*a*(9), klorofill-*b*(3), lutein (2), neoxantin (1), violaxantin (1)

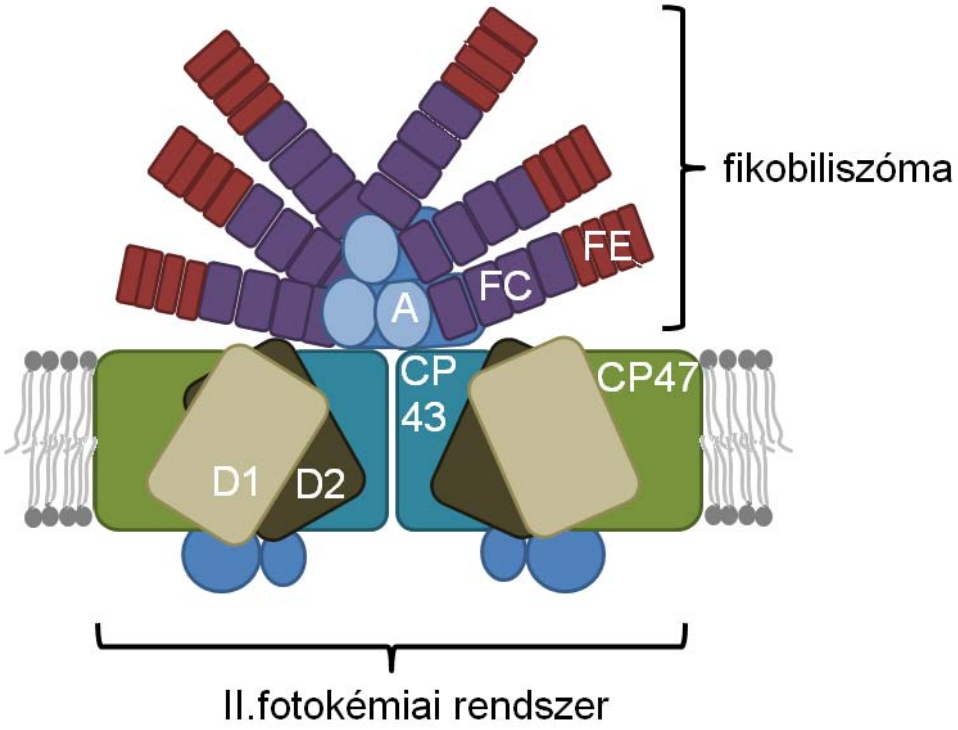
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

CP26	26 (3)	*Lhcb4* (N)	klorofill-*a*(6), klorofill-*b*(4), lutein (2), neoxantin (1), violaxantin (1)
CP24	24 (3)	*Lhcb4* (N)	klorofill-*a*(5), klorofill-*b* (5), lutein (2), neoxantin (1), violaxantin (1)
PsbS (CP22)	22 (4)	*Psbs* (N)	klorofill-*a* (4-5), klorofill-*b* (0-1), lutein (0-1), neoxantin (0-1), violaxantin (1)
Lhcb1	25 (3)	*Lhcb1* (N)	klorofill-*a* (8), klorofill-*b*(6), lutein (2), neoxantin (0-1), violaxantin (0-1)
Lhcb2	26 (3)	*Lhcb1* (N)	klorofill-*a*(8), klorofill-*b* (6), lutein (6), neoxantin (0-1), violaxantin (0-1)
Lhcb3	27 (3)	*Lhcb1* (N)	klorofill-*a*(8), klorofill-*b*(6), lutein (2)
PSI			
PsaA	83 (11)	*PsaA* (C)	P700 (1), klorofill-*a*'-*a* dimer
PsaB	82 (11)	*PsaB* (C)	járulékos klorofill-*a*(2)
			A_0 klorofill-*a* (2)
			klorofill-*a* (79), *β*-karotin (22)
Lhca1	22 (3)	*Lhca1* (N)	klorofill-*a* (8), klorofill-*b* (2), lutein (2), violaxantin (1)
Lhca2	23 (3)	*Lhca2* (N)	klorofill-*a* (6-7), klorofill-*b* (3-4), lutein (1-2), violaxantin (0-1)
Lhca3	25 (3)	*Lhca3* (N)	klorofill-*a* (8-9), klorofill-*b* (1-2), lutein (1-2), violaxantin (0-1)
Lhca4	22 (3)	*Lhca4* (N)	klorofill-*a* (7-8), klorofill-*b* (2-3), lutein (1-2), violaxantin (0-1)

3.4.3. Fikobiliproteinek

Az alacsonyabb rendű oxigéntermelő fotoszintetizáló szervezetek közül a cianobaktériumok és a vörösalgák nem tartalmaznak LHC-típusú, tilakodmembránba ágyazódó fénygyűjtő antennákat, helyette ún. fikobiliproteinekből álló antennarendszereket: **fikobiliszómá**kat használnak (3.14. ábra), melyek lehetővé teszik számukra, hogy a nagyon alacsony intenzitású, zöld növények által nem használt spektrális tartományú fény energiáját is hasznosítsák. A fikobiliszómákat felépítő pigment-protein komplexek vízoldékony fehérjék, ezért nem a tilakoidmembránba ágyazva, hanem a kloroplasztiszok sztrómájában/cianobaktériumok citoplazmájában találjuk meg ezeket. A szómákat alkotó fikobiliproteinek három fő csoportba sorolhatók: 1. allofikocianinok, 2. fikocianinok, 3. fikoeritrinek. A fikoeritrinek abszorpciós maximuma általában 560 nm körül van, míg a fikocianinok 620 nm-nél, az allofikocianinok pedig 650 vagy 670 nm környékén mutatnak abszorpciós maximumot.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.14. ábra Fikobiliszóma felépítése, és a II. fotokémiai rendszerhez történő kapcsolódása cianobaktériumokban. A fikobiliszómák a tilakoidmembrán sztróma felöli oldalán, a CP43 fehérjén keresztül kapcsolódnak a core complex II dimerekhez. A fikobiliszómák központi elemét az allofikocianin-heterohexamerek alkotják (A), melyekhez sugárirányban kapcsolódnak a fikocianin (FC) és fikoeritrin (FE) komplexek.

1. Allofikocianinok. Az allofikocianinokban kromofórként a fikocianobilin szerepel. Kétféle alegységből (α és ß) épülnek föl, melyekhez 1-1 fikocianobilin kapcsolódik. Az allofikocianin B-ben, pl. három α- és három ß-alegység található, melyek mindegyikéhez egy fikocianobilin kromofór kapcsolódik.

2. Fikocianinok. A fikocianinok szintén kétféle alegységből állnak, bennük a fikocianobilin és a fikoeritrobilin is szerepelhet kromofórként. Az R-fikocianin pl. három α - és három ß-alegységből épül föl. Az α-alegység egy fikocianobilint tartalmaz, a ß-alegység pedig egy fikocianobilinnel és egy fikoeritrobilinnel rendelkezik.

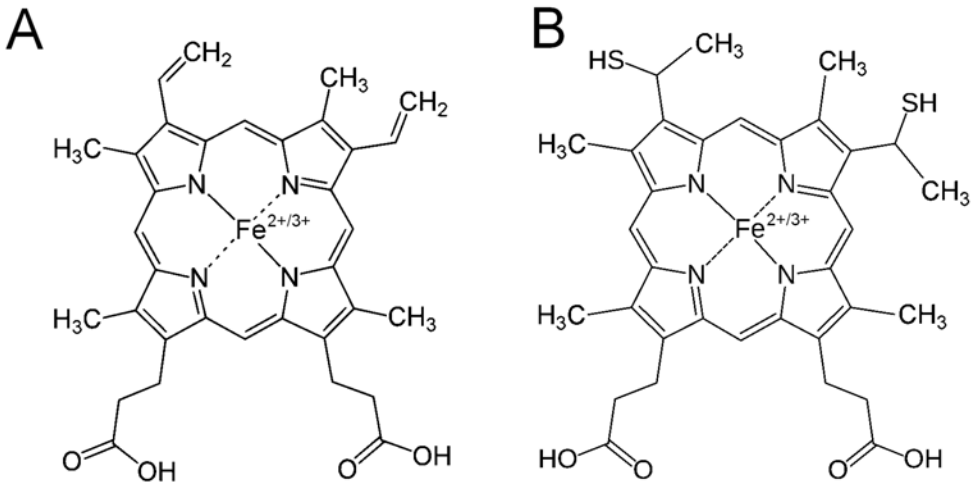
3. Fikoeritrinek. A fikoeritrinek is többnyire kétféle, néha háromféle alegységből állnak és fikocianobilint nem, csak fikocianobilint tartalmaznak. A C-fikoeritrin pl. hat α-alegységet – egyenként két fikoeritrobilinnel – és hat ß-alegységet – egyenként négy fikoeritrobilinnel – tartalmaz.

A fikobilinek egy vinil-csoportjukon keresztül kapcsolódnak az apoproteinek SH-csoportjaihoz (Cys). A fikobiliszómákban a fikobiliproteinek heterodimereket képeznek, amely heretodimerek trimerekké (heterohexamer) állnak össze – ezek a heterohexamerek a fikobiliszómák építőkövei. A heterohexamerek között összekötő fehérjék teremtenek kapcsolatot. A fikobiliszómák kapcsolófehérjék segítségével tapadnak a membránok felszínéhez. A fikobiliszóma bazális, membránhoz csatlakozó egységei a pálcika alakú, öt allofikocianin-heterohexamerből felépülő komplexek. A bazális egységek négy-hat újabb pálca-szerű komplexszel vannak kapcsolatban. Ezek a komplexek fikocianinból és fikoeritrinből épülnek fel oly módon, hogy a fikoeritrin mindig a membrántól (és az allofikocianin-heterohexamerektől) távolabb eső oldalon található meg. A fikoeritrinen kötődő fikoeritrobilin abszorpciós maximuma alacsonyabb, mint a fikocianinon és az allofikocianinon kötődő fikocianobilin, ezért a gerjesztési energia átadása az allofikocianin felé, tehát a tilakoidmembrán (és a reakciócentrum) irányába valósul meg. A fikobilinek fényelnyelése lehetővé teszi, hogy a cianobaktériumok és a vörösalgák a kis intenzitású, zöldalgák és magasabb rendű növények által nem hasznosított zöld fényt is elnyeljék, és képesek legyenek a mélyebb vizekben is fotoautotróf anyagcserét folytatni. A kis fényintenzitás hasznosításához természetesen nagy mennyiségű antennára van szükség, ezért ezek a fotoszintetikus szervezetek a teljes proteintartalom ~40%-ban fikobiliproteineket tartalmaznak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

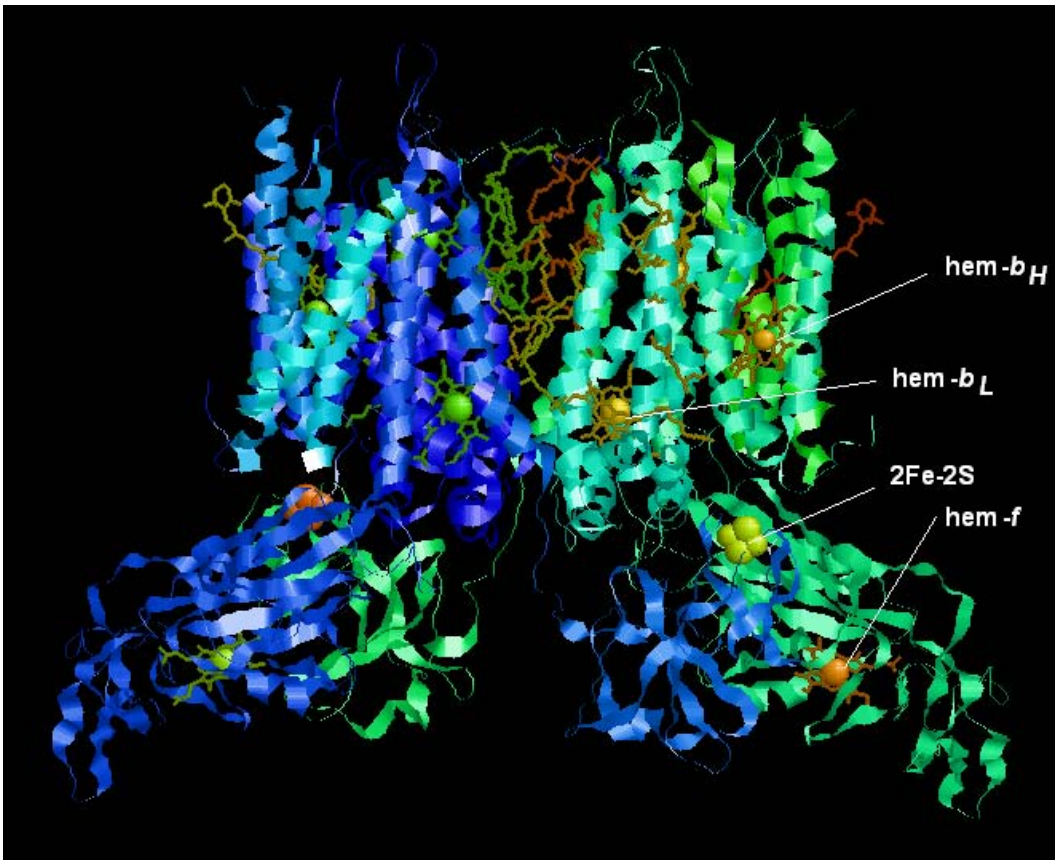
3.4.4. A fotoszintetikus apparátus felépítésében szerepet játszó további fehérjék és komplexek

A fotoszintézis, szűkebb értelemben véve a fotoszintézis fényszakaszának működéséhez számos olyan membránfehérje komplex is szükséges, melyek fotoszintetikus pigmenteket nem tartalmaznak. A tilakoidmembránban a PSI és a PSII mellett az egyik fő fehérjekomplex a **citokróm** (Cit) ***b*$_6$*f* komplex**. A citokrómok az élővilágban általánosan elterjedt fehérjék: elektronátmenettel járó reakciókat katalizálnak. Nevüket a spektroszkópiai tulajdonságaik alapján kapták (kytosz=üreg, átv. sejt, kromosz=szín [gör.]), fő kofaktoraik ugyanis a porfirin-vázas **hem**ek. A hemek olyan vízoldékony porfirin-vázas vegyületek, melyekben a porfirin-váz közepén, a pirrolgyűrűk N-koordinációjában vegyértékváltásra képes $Fe^{2+/3+}$ ion foglal helyet. Ahogyan klorofillok esetében is, a különböző hemek között is a pirrolgyűrűk oldalláncai tesznek különbséget: megkülönböztetünk *a*, *b* és *c* típusú hemeket (3.15. ábra). Struktúra szempontjából a **hem-*b*** képviseli a hemek „alapszerkezetét". A **hem-*c*** ettől a vinil-csoportokhoz kapcsolódó SH-csoportokban tér el. Ezeken a SH-csoportokon kereztül a hem-*c* kovalens kötéssel kötődik a citokróm ciszteinjeihez. A hem-*a*, amely a fotoszintetikus apparátusban nem fordul elő, csak a mitokondriumokban, a hem-*b*-től a vinil-csoportokhoz asszociált farnezil-oldalláncban tér el. A klorofillokhoz hasonlóan a hemek is planáris struktúrákat képeznek. A központi vas-ion hat koordinációs kötést tud kialakítani, amelyből néggyel a porfirin-vázhoz kapcsolódik, két koordinációs kötéssel pedig az citokróm apoprotein hisztidin-oldalláncaihoz kapcsolódik. A citokrómok az általuk kötött hemek típusai alapján kapták a nevüket. Kloroplasztiszokban hem-*b* és hem-*f*-kötő fehérjéket találunk (a plasztiszok hem-*f* kofaktora tulajdonképpen egy hem-*c*), a hagyomány szerint a hem-*f*-t kötő citokrómot **Cit *f*-**nek hívjuk (az f= foliar [ang.], azaz levelekben megtalálható rövidítésből). A Cit *b*$_6$*f* komplex (3.16. ábra) a tilakoidmembránban aktív állapotban dimer formában fordul elő. Felépítésében négy nagyobb és három kisebb polipeptid vesz részt. A nagyobb komponensek közül a Cit *f* (apoproteinje a PetA fehérje) egy *c* típusú hemet tartalmaz, és közeli rokonságot mutat a mitokondriumok Cit *c* fehérjéjével. A **Cit *b*$_6$** (PetB) két *b* típusú hemet (Cit b_{563}) tartalmaz. A komplex nagyobb molekulatömegű komponense ezeken felül a magas redoxpotenciálú vas-kén centrumot hordozó Rieske-féle Fe_2S_2-fehérje (PetC), valamint a Cit b_6-tal együtt a plasztokinon és plasztokinol kötéséért felelős fehérje (IV-es alegység - PetD) is. A **Rieske-féle Fe_2S_2-fehérje** a sejtmagban, a másik három apoprotein a plasztisz genomjában kódolt. A kis molekulatömegű fehérjéknek komplex-stabilizáló szerepe lehet. A mitokondriális Cit b/c_1 komplextől eltérően, a plasztisz Cit *b*$_6$*f* típusú komplexe egy klorofill-*a* molekulát, egy *β*-karotint és egy extra hemet is tartalmaz. A komplex a membrán belseje felé eső oldalán PQ-t és PQH_2-t (plasztokinolt), a lumen felőli oldalán plasztocianint (Pc) köt. A tilakoidmembránban a Cit *b*$_6$*f* komplex dimerizálódik, aktív dimerként van jelen.



3.15. ábra A fotoszintézisben szerepet játszó hem-kofaktorok: (A) hem-*b* és (B) hem-*c*. A hemek a klorofillokhoz hasonlóan porfirin-vázas vegyületek, a porfirin-váz központjában azonban vegyértékváltásra képes vas-ion foglal helyet. A Cit *b6/f* komplex f-citokrómja nevétől eltérően hem-*c* kofaktort köt.

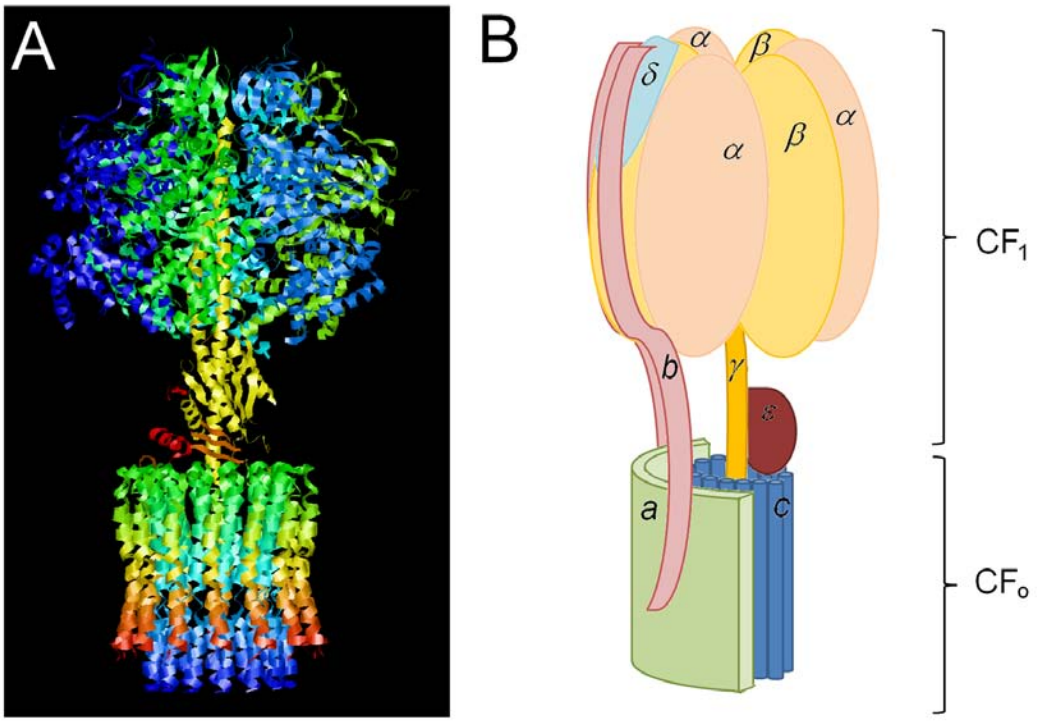
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.16. ábra A tilakodmembránban dimerként előforduló Cit b_6/f komplex szerkezete, a membrán síkja felöli nézetben. Egy Cit b_6/f komplexet négy fehérje (PetA, PetB, PetC, PetD) épít fel, melyek közül a PetA, PetB egy-egy hem-kofaktort, míg a PetC (Rieske-féle FeS-protein) egy Fe_2S_2 centrumot köt. A komplex membránba ágyazódó részét PetB fehérjék alkotják.

A tilakoidmembránokban nagy mennyiségben találkozhatunk az **ATP szintáz** komplexxel is (3.17. ábra). Az ATP szintáz egy nagyméretű fehérjekomplex, melynek membránba ágyazódó (**CF_o**) és membránba nem ágyazódó alegységei (**CF_1**) vannak. Térszerkezeti képe leginkább egy membránból kiálló gombaszerű komplexhez teszi hasonlatossá, a „fej" mérete összevethető a membrán vastagságával. Az CF_1-CF_o ATP szintáz egy forgómotoros enzim, aminek a rotorikus, elforduló komponense a membránban lévő CF_o komplex. A membránból kiálló, vízoldékony CF_1 alegység a forgó alegységhez kapcsolódik. A komplex felépítésében hasonlít a mitokondrium, illetve a baktériumok F-típusú H^+/ATPázaira. A CF_1 alegység könnyen izolálható, a többi alegység hiányában azonban nem a szintézist, hanem az ATP bontását katalizálja. Mind a CF_o, mind a CF_1 alegység multiprotein komplex, melyek közül a CF_1 alegységet öt (α, β, γ, δ, ε; α_3-β_3-γ-δ-ε sztöchiometriában), míg a CF_o alegységet négy fehérjetípus (I, II, III és IV; I-II-III_{14}-IV sztöchiometriában) építi fel. A CF_1 alegység alapszerkezetét az α és β fehérjékből felépülő heterodimerek trimerizációjával létrejövő heterohexamer alkotja, a funkcionális alapegységek azonban az α-β heterodimerek. A γ, δ és ε fehérjeláncoknak a fej stabilizálásában és a CF_o alegységhez kapcsolásában van szerepe. A CF_o alegység alapszerkezetét a 14 darab, egy membránt átérő α-hélixből álló III-fehérjéből álló gyűrű határozza meg. A fejcsoporthoz hasonlóan az I, II és IV. fehérjéknek a funkció szabályozásában van szerepe. Az ATP szintáz tehát nagyméretű, a membrán síkjából kiálló fehérje, ezért a tilakoidmembránban nem helyezkedhet el akárhol: a sztrómatilakoidokban, valamint a gránumok felszínén lehet megtalálni, a gránumok belsejéből (az összefekvő membránfelszínek miatt) teljesen hiányoznak.

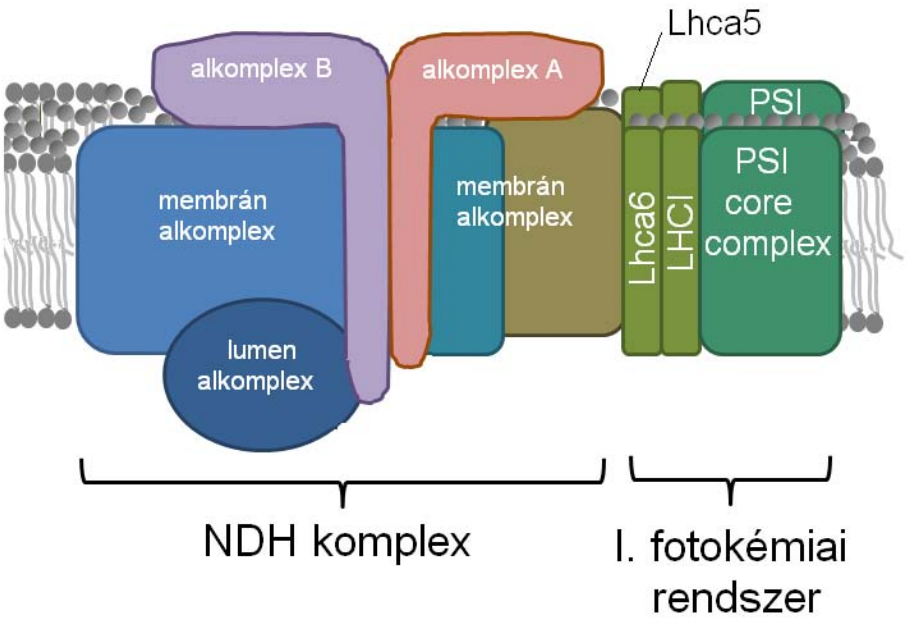
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.17. ábra CF_oCF_1 ATP szintáz szerkezete (A), és a komplex sematikus szerkezete (B) a membrán síkjának nézetében. A röntgenkrisztallográfiás szerkezeti modellről hiányoznak az a, b és δ alegységek, amelyeket nem sikerült a komplex többi részével együtt kristályosítani. A tilakoidmembránba ágyazódó CF_o alegység fehérjeláncai gyűrű-szerű struktúrát alakítanak ki, amelynek a protonok transzlokációjában van kitűntetett szerepe. A fej alegységet α-β heterodimerek trimerizációja hozza létre. A CF_o alegység és a fej közötti kapcsolatot a γ lánc α-hélixei teremtik meg (nyél).

A fotoszintézis működése szempontjából nagy szerepe van a kloroplasztiszok **NAD(P)H dehidrogenáz** (**NDH**) **komplex**ének is. Tizenegy proteinből (NdhA-K) felépülő, részben a tilakoidmembránban elhelyezkedő komplex, amely nagy hasonlóságot mutat a mitokondriumok és a baktériumok NDH komplexeivel. Szerepe a ciklikus elektrontranszportban és a **klororespiráció**ban van. Négy fő alegységre bontható, melyek közül az A és B alegységek a tilakoidmembránban és a lumenben helyezkednek el, míg a komplex többi része a sztrómába nyúlik. A PSI core complexxel kapcsolódva NDH-PSI szuperkomplexeket alakít ki. A komplex kialakításában és a kapcsolódásban az Lhca5 és Lhca6 minor LHCI fehérjéknek van szerepe (az Lhca6 csak az NDH-PSI szuperkomplexben van jelen). Egy NDH komplex legalább két PSI core complexxel áll kapcsolatban, így egy nagyjából 1.000 kDa molekulatömegű szuperkomplexet hoz létre (3.18. ábra).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.18. ábra Az NDH és PSI komplexek által alkotott szuperkomplex. A két komplex között a kapcsolatot az Lhca6/Lhca6 fehérjék teremtik meg. A komplexnek a ciklikus elektrontranszportban van szerepe (3.5.5. fejezet).

Az elmúlt években azonosították a **PRG5** és a **PGRL1** fehérjéket a tilakoidmembránból. A PGRL1 monomerként, homodimerként, vagy a PRG5 fehérjével alkotott heterodimerként fordul elő. Szerepük a ciklikus elektrontranszportban van, de az NDH komplextől független működésűek. A PGRL1 membránba ágyazódó fehérje, két cisztein-oldalláncon keresztül egy vas-kofaktort köt, amelynek strukturális, és/vagy redox reakciót katalizáló szerepe van. A PRG5 a sztróma felől kötődő, szolubilis fehérje. Működés közben a PGRL1 fehérje a PRG5 mellett kapcsolódik ferredoxinhoz és ferredoxin:$NADP^+$ oxidoreduktázhoz is, valamint szuperkomplexet alkot a PSI és Cit b_6f komplexekkel.

A membránban elhelyezkedő fehérjekomplexek mellett számos vízoldékony, ezért a sztrómában/lumenben megtalálható fehérje vesz részt a fotoszintetikus apparátus felépítésében. A **plasztocianin (Pc)** a fotoszintetikus elektrontranszport egyik legismertebb – és legkorábban feltárt, mobilis, tilakoid lumenben megtalálható komponense, mely a különböző fotoszintetizáló szervezeteket összehasonlítva erősen konzervált struktúrákkal rendelkezik. 1960-ban **Katoh** fedezte fel *Chlorella elipsoidea*-ban. Az apoprotein genetikai kódja a sejtmagban található, ezért a fehérje a citoplazmában szintetizálódik, és jut be a kloroplasztiszokba. Monomer formában fordul elő, nyolc antiparallel β-láncból felépülő hordó (β-barrel) az alapszerkezete. Réztartalmú fehérje (kyanosz=égszínkék [gör.], a réz-vegyületek színére utalva), a rézkötő hely egy elforgatott háromszögletű piramisként írható le. A piramis alapjánál két, külön hisztidinből származó N-atom, és egy ciszteinből származó S-atom foglal helyet, míg csúcsánál egy metioninból származó S található. A rézion a két S-atomtól eltérő távolságra koordinált, amely koordináció destabilizálja a Cu^{2+} elektronfelhőjét, s ez csökkenti a Pc redoxpotenciálját. A Pc képes kötődni mind a Cit *f*, mind a PsaF,A,B és N fehérjékhez (I. fotokémiai rendszer). Diffúziós sebessége a lumenben 10^{-8} cm^2 s^{-1} nagyságrendű.

A plasztocianinhoz hasonlóan mobilis, vízoldékony, kisméretű fehérje a kloroplasztiszok sztrómájában megtalálható **ferredoxin** (Fd) is. A Fe_2S_2 kofaktort tartalmaznak és a PSI elektron akceptoraiként funkcionálnak. A Fe-S centrum ciszteineken keresztül kötődik a fehérjéhez. Strukturálisan rokonságot mutatnak a Rieske-féle Fe-S fehérjével. A **ferredoxin:$NADP^+$ oxidoreduktáz** (FNR) szintén a sztrómában lokalizált fehérje, egy helikális strukturális elemével a tilakoidmembránhoz kapcsolódik – ez a kapcsolat szerepet játszik más, tilakoidmembránba ágyazódó fehérjekomplexxel történő kapcsolódásában is. FAD kofaktorral működő enzim, szerepe a Fd és a $NADP^+$ közötti redox reakcióban van. A Cit b_6f komplexhez történő asszociációja szerepet játszik a ciklikus elektrontranszportban. A levelekben megtalálható FNR izoformákkal ellentétben, a gyökerekben az FNR szerepe sokkal inkább a Fd felé irányuló elektrontranszportban van.

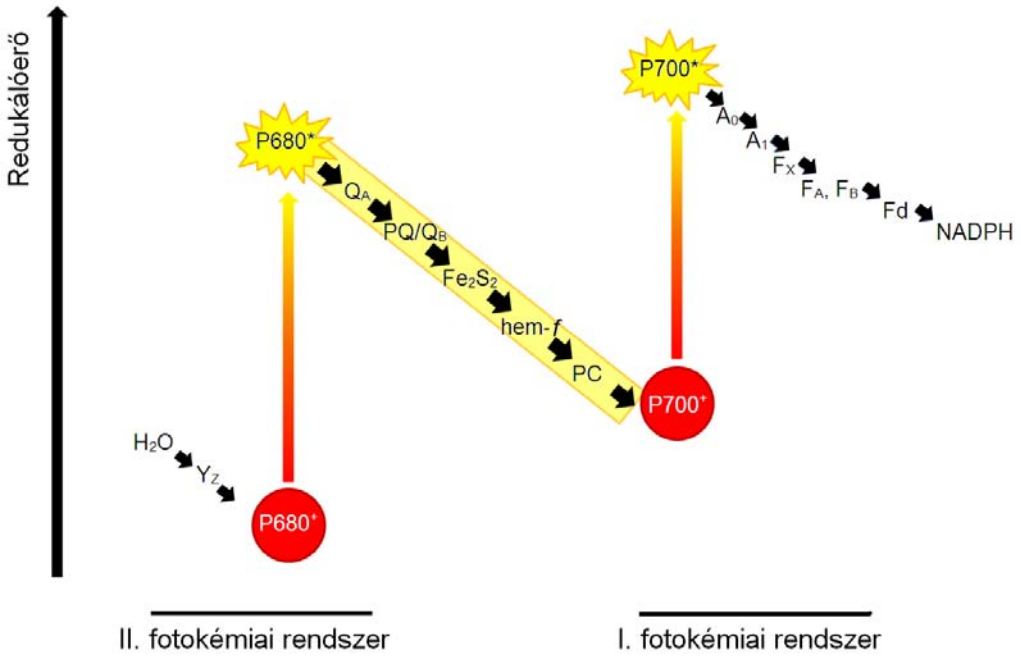
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.5. A fotoszintetikus elektrontranszportlánc

A fotoszintetikus pigmentek által elnyelt fényenergia kémiai energiává történő konvertálását a fotoszintetikus apparátus végzi. Az elnyelt gerjesztési energia primer fotokémiai reakciót vált ki a reakciócentrumokban (P680 és P700 klorofill-*a* dimerek a magasabb rendű növényekben). A fotoszintézis elektrondonorai (oxigéntermelő fotoszintézis esetében a víz), a reakciócentrumok és a redukáló kapacitást tároló, tehát az elektronok végső akceptor-molekulái ($NADP^+$) között a kapcsolatot a fotoszintetikus elektrontranszportlánc teremti meg. Az elektrontranszportlánc működése minden esetben együtt jár egy protongrádiens kialakulásával a tilakoidmembrán két oldala között. Az elektrontranszportlánc működése úgy fogható fel, mint különböző biokémiai redox reakciók sorozata, ahol az elektronakceptor-molekulák redukálódását a Gibbs-féle szabadenergia változása (ΔG) határozza meg. A PSII donor-oldali, és a PSI akceptor-oldali reakciói között nagyjából 3,45 V elektronegativitás-különbség mérhető a fotoszintetikus elektrontranszportláncban – ez a legnagyobb elektronegativitás-különbség, amely egy biológiai rendszerben előfordulhat. Amint azt a fényenergia abszorpciója során leírtuk, az elnyelt fényenergia elektródpotenciál-változást okoz a pigment-molekulákban. A fotoszintetikus elektrontranszportláncban mérhető elektródpotenciál-változás energetikai hátterét a fényenergia szolgáltatja. A gerjesztés hatására a reakciócentrum-pigmentek fotokémiai reakcióba lépnek, és leadják a π^* pályán lévő vegyértékelektronokat, majd kationná alakulnak. A P700* gerjesztett reakciócentrum a szervezet egyik legerősebb redukáló-, míg a $P680^+$ kation az egyik legerősebb oxidálószere. Egyetlen, látható hullámhossz-tartományba eső foton azonban nem képvisel akkora energiát, hogy fedezze a víz oxidálása és a $NADP^+$ redukálása között elektródpotenciál-különbséget, ezért az elektronegativitás-különbség két lépcsőben: két fotokémiai rendszer együttműködésével lehetséges.

Emerson és munkatársai kísérletei alapján egyértelművé vált, hogy a fotoszintetikus elektrontranszportláncban két, egymással együttműködő fotokémiai rendszer van jelen, valamint hogy az oxigéntermelésért a PSII felelős. A fotokémiai rendszerek összekötésére **Hill** és **Bendall** 1960-ban közölte a híres **Z-séma** modelljét (3.19. ábra): a modellben két, a fényenergiát egymástól függetlenül elnyelő fotokémiai rendszer a felelős a fényenergia kémiai energiává konvertálásában. A séma az elnevezését onnan kapta, hogyha a fotokémiai és biokémiai folyamatokat az elektródpotenciál függvényében ábrázoljuk, egy 90°-kal jobbra forgatott Z-alakot kapunk. A Z-séma két szárát két nagy elektródpotenciál-változás: a fotonok PSII, illetve PSI általi abszorpciója miatt bekövetkező elektronegativitás-csökkenés (redukáló kapacitás-növekedés) adja. A Z-alak ferde szára pedig a két fotokémiai rendszer között teremt kapcsolatot. A PSII akceptor-oldala és a PSI donor oldala között a folyamatok egyre növekedő elektronegativitás-értékek mentén mennek végbe, így ezek a folyamatok a Gibbs-féle szabadenergia szabálya alapján működnek. **Duysens** és **Sweers** 1963-ban mutatta ki először, hogy a PSI-et gerjesztve egy citokróm oxidálódik, a PSII-t gerjesztve pedig redukálódik – ezzel először igazolták kísérletesen a Z-séma elméletét, a két fotokémiai rendszer között a citokróm redox reakciója teremt kapcsolatot. A kísérletben vizsgált citokrómot ma Cit *f*-nek hívjuk, amely a Cit b_6/f komplex része.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.19. ábra Hill és Bendall Z-séma modellje, amely a két fotokémiai rendszer redox reakciókként való értelmezésén alapul és a két fotokémiai rendszer működése között teremt összefüggést.

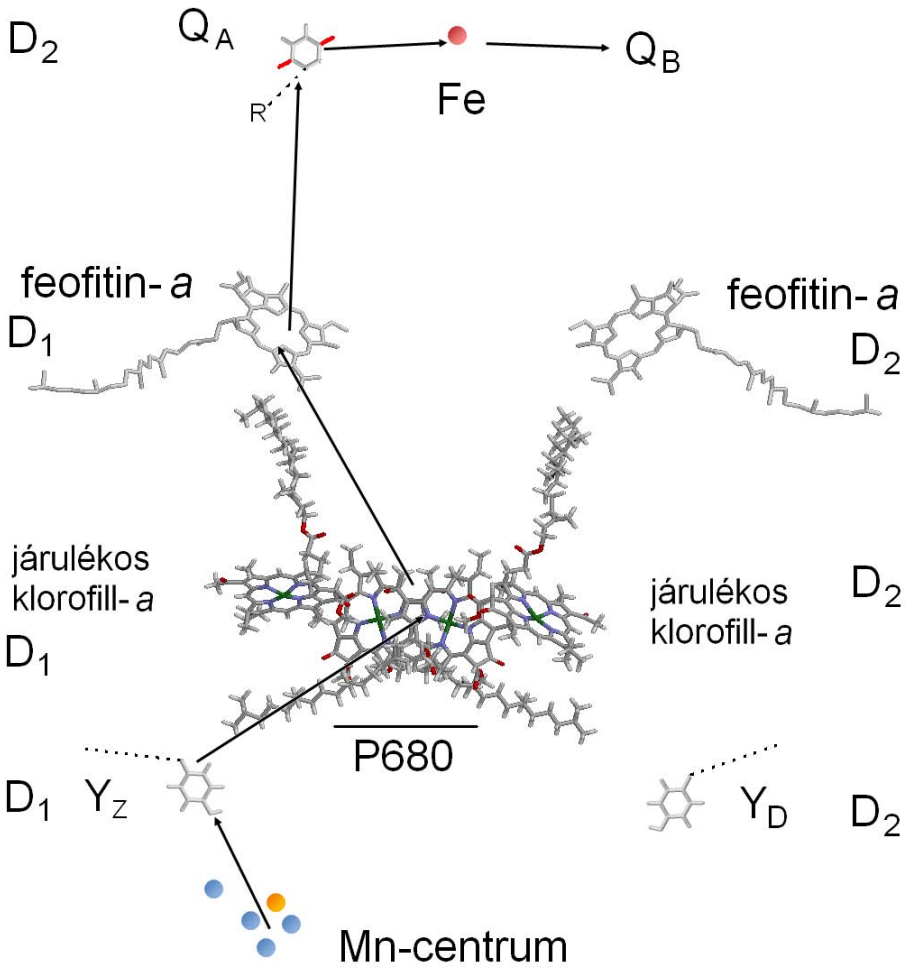
3.5.1. A II. fotokémiai rendszer működése

Mint azt a két fotokémiai rendszer bizonyítékai között láttuk, a fotoszintetikus oxigéntermelésért, tehát a víz bontásáért a II. fotokémiai rendszer a felelős. Fontos megjegyezni, hogy a fotokémiai rendszerek elnevezése nem a folyamatok egymásutániságán, hanem tudománytörténeti okokon alapul. A PSII reakció centrum pigmentje, a **P680** fényenergiát elnyelve, avagy a gerjesztési energiához energiatranszferrel hozzájutva gerjesztett P680* állapotba kerül. A P680* állapotban a dimer redox potenciálja megváltozik: az egyik π elektron π* lazító pályára kerül, majd a negatívvá váló redox potenciál miatt a PSII feofitin-*a* molekulájára kerül át, miközben a dimerből $P680^+$ kation keletkezik. A feofitin-*a* nem tudja stabilan megtartani az extra vegyértékelektront, ezért azt továbbadja a Q_A kinon felé (3.20. ábra). Mivel a feofitin-*a* kis hatékonysággal a $P680^+$ számára is visszaadhatja az elektront, a stabil töltésszétválás csak a Q_A redukciójakor történik meg ($P680^+ \leftrightarrow Q_A^-$). A Q_A kémiailag plasztokinon-molekula (PQ), azonban stabilan a PSII core complexhez kötődik. A Q_A csak egy elektront képes felvenni (szemokinonná alakul), majd továbbadja azt a Q_B-nek, amely egy core complexhez kötődő, de disszociábilis plasztokinon-molekula. A Q_A-Q_B elektronátadás katalizálásában a PSII nem-hem vas-ionja, és a hozzá kötődő karbonát-ion játszik szerepet. A Q_A-val ellentétben a Q_B két elektron felvétele után két H^+-t megkötve plasztokinollá alakul (PQH_2), és disszociál a PSII core complexről: a Q_B teljes redukciója tehát két fotokémiai aktust igényel. A PSII core complex akceptor-oldala a sztrómához esik közelebb, ezért a redukált Q_B mindig a sztróma hidrofil fázisa felől köt meg H^+-okat. (Fontos megjegyeznünk, hogy bár H^+-okról beszélünk, egy hidrofil fázisban szabad H^+-ok soha nincsenek jelen, azok mindig vízmolekulákhoz (H_3O^+) kapcsolódnak, vagy szerves vegyületeket, többségében aminosav-oldalláncokat protonálnak.) A PQH_2 disszociálása után a tilakoidmembrán PQ-pooljából újabb oxidált PQ molekula kötődik a PSII core complexhez, és tölt be a Q_B szerepét. A PSII core complex akceptor-oldali folyamatai közül a primer töltésszétválás (P680→feofitin-*a* elektronátmenet) 3 ps idő alatt végbemegy, míg a feofitin-*a*→Q_A elektronátmenet 200-300 ps időt vesz igénybe. A Q_A-Q_B redox reakció ennél is több, 0,1-0,2 ms időt vesz igénybe. A Q_B második redukciója (PQH_2-vé alakulása) pedig 0,4-0,5 ms időintervallumban játszódik le.

A vegyértékelektron leadása után a P680 reakciócentrum $P680^+$ kationná alakul, amely nagyon erős oxidálószer: a legerősebb oxidálószer, amely élő szervezetekben előfordul. A $P680^+$ a leadott elektronját a közvetetten a víz oxidálásából származó elektron(ok)ból pótolja. Az oxidált állapotú $P680^+$ leadott elektronja helyett primer donorától (Z) vesz föl egy elektront. A primer donor szerepét a D1 fehérje 161. aminosava, egy tirozin (Y_Z) tölti be. Az Y_Z egy elektront leadva deprotonálódik és $Y_Z^{\cdot}$ gyökké alakul, majd gyorsan redukálódik a vízbontásból származó

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

elektronokkal, így katalizálja a víz→P680 elektrontranszport-lépést. A vízbontó komplex működéséért a Mn-centrum felelős.



3.20. ábra A PSII reakció centrum elektrontranszport-folyamatai. Az elektronok mozgási irányát fekete nyilak jelölik. A P680 klorofill-*a* dimert a D_1-D_2 heterodimer fehérje közösen köti. Bár a kofaktorok közül mind a D_1, mind a D_2 protein köt járulékos klorofill-*a*, feofitin-*a*, plasztokinon kofaktorokat, és van a reakció centrumhoz közeli tirozin-oldallánca, csak a D_1 proteinen kötött kofaktorok játszanak szerepet az elektrontranszportláncban. Az elektrontranszport iránya tehát: Mn-centrum → Y_Z → P680 → feofitin-*a* (D_1) → Q_A – nem hem Fe → Q_B.

Emerson kísérleteiből egyértelmű, hogy egy O_2-molekula keletkezéséhez két H_2O-molekuláról összesen 4 elektron eltávolítása szükséges, ami a PSII-ben 4 egymás után következő fotokémiai lépést igényel. Mivel egy fotokémiai aktusban csak egyetlen elektron átadása játszódik le, egyetlen oxigén-molekula képződéséhez a részben oxidált intermedierek stabil kötése szükséges. A **vízbontó komplex** működését kísérletesen **Pierre Joliot** és **Bessel Kok** tudták megközelíteni, egymástól függetlenül, impulzus megvilágítás alkalmazásával. Egy oxigéntermelő fotoszintetikus szervezetet folytonos fénnyel megvilágítva az oxigéntermelés egy meghatározott fényintenzitásig emelkedik, majd telítésbe megy. A telítési oxigéntermelést kiváltó megvilágítást telítési fényintezitásnak nevezzük. A fotoszintetizáló szervezetet nem folytonos, hanem diszkrét impulzusokkal megvilágítva, úgy, hogy a felvillanás ideje csak egy fotokémiai reakciót tegyen lehetővé, az oxigéntermelés és a fotokémiai reakció kapcsolata vizsgálhatóvá válik. Mind Joliot, mind Kok munkatársaikkal azt tapasztalták, hogy a 30 percig sötétadaptált objektumot rövid megvilágításoknak kitéve az oxigéntermelés oszcillál. Az első felvillanásra a szervezetek sohasem termeltek oxigént. A második felvillanás kis mennyiségű oxigéntermelést eredményez, míg a harmadik felvillanásra olyan nagy az oxigén-kibocsátás, amely az messze felülmúlja azt az értéket is, amit a folytonos telítési fényintenzitáson mérni lehet. A harmadik felvillanáskor kapott érték elérheti a telítési érték csaknem háromszorosát is. A további felvillanásoknál kapott oxigéntermelés értéke azt mutatja, hogy egy oszcilláció tapasztalható az oxigéntermelésben. A maximum értékek négyes periódusokban jelentkeznek: így a 3, 7, 11, 15 felvillanás után

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

mérhetők. Az oszcilláció a további fényfelvillanások alkalmazásával egyre csillapodik, egyre közelít a folytonos megvilágításkor mért értékhez és gyakorlatilag 25 felvillanás után már nem is tér el ettől az értéktől, azaz megszűnik az oszcilláció. A PSII reakciócentrumok egy részében a felvillanás alatt nem történik fotokémiai reakció (~10%), más részében (~5%) viszont kettő is végbemegy, ami hosszabb távon megszűnteti az oszcillációt.

Mivel az oxigéntermelésben négyes periódusok tapasztalhatók, a PSII vízbontó komplexe négyféle állapotot: S_0, S_1, S_2, S_3 és S_4 vehet föl, ami a pozitív töltések összegyűjtését szolgálja a vízbontás számára. Az oxigén-felszabadulás az S_4 állapotból következik be és az S_4 állapot azonnal S_0-ba alakul át. Az $S_4 \rightarrow S_0$ átalakulás tehát nem más, mint a vízbontó komplexből az O_2 felszabadulása, majd az üres vízbontó komplexbe két H_2O molekula kötődése (S_0 állapot). Az állapotok közötti átmenet a PSII-ben végbemenő fotokémiai reakcióhoz kötött, kivéve természetesen az $S_4 \rightarrow S_0$átmenetet, amely független a fotokémiai folyamatoktól. A két vízmolekula tehát nem egy lépésben bomlik fel, hanem közbenső oxidációs állapotok alakulnak ki.

Az impulzus megvilágítással kapott kísérleti eredmények alapján sötétadaptált levelekben a vízbontó komplex csak S_0 és S_1 állapotban lehet az. Mind az S_0, mind az S_1 állapot stabil és a sötétadaptálás után az egyes állapotok gyakorisága $S_0 : S_1 : S_2 : S_4 = 0{,}25 : 0{,}75 : 0 : 0$. Sötétben tehát a PSII akceptor oldalán a vízbontó komplexben az S_1 állapot a legvalószínűbb (75%), ugyanakkor 25%-ban S_0 állapot fordul elő. Az első felvillanáskor $S_1 \rightarrow S_2$, illetve $S_0 \rightarrow S_1$ átalakulások mennek végbe az egyes PSII reakciócentrumokban, így nem alakulhat ki S_4 állapot még akkor sem, ha egyes PSII reakciócentrumokban esetleg két fotokémiai aktus játszódott le. Ez az oka annak, hogy az első fény felvillanásra sosem képződik oxigén. A második felvillanáskor alapvetően $S_2 \rightarrow S_3$, illetve $S_1 \rightarrow S_2$ átalakulások történnek, amikor szintén nem állna elő az S_4 állapot, ha nem történne két fotokémiai reakció a PSII reakciócentrumok kis százalékában egy felvillanás alatt. Mivel mintegy 5%-ban két fotokémiai reakció is lejátszódik, ezért egyesekben megjelenik az S_4 állapot, ami miatt kismértékű oxigéntermelést tapasztalunk a második felvillanás esetében. A szinkronizált működés miatt a harmadik felvillanásra kialakuló S_4 állapot nagymértékű oxigéntermelést eredményez, ami a folytonos megvilágításkor tapasztalt érték csaknem háromszorosa is lehet (hiszen az egyensúlyi megoszlás 25-25%-a helyett a vízbontó komplexek 75%-a kerül egyszerre S_4 állapotba). A kettős, ill. végbe nem menő reakciók miatt fokozatosan megváltoznak és egy idő után ugyanúgy 25-25%-os valószínűséggel fordulnak elő az egyes S állapotok, mint folytonos megvilágításkor.

A PSII vízbontó komplexét a Mn-centrum alkotja. A centrumban két vízmolekula megkötését, és a vegyértékelektronok egymás utáni eltávolítását a Mn-ionok és vízmolekulák O-atomjai között végbemenő redox reakciók eredményezik. A korábban megismert állapotok (S) tehát a Mn-centrum oxidációs állapotainak feleltethető meg. Bár a Mn-centrum működése a mai napig nem teljesen ismert minden lépésében, a legnagyobb valószínűség szerint S_1 és S_2állapotban Mn^{3+} és Mn^{4+}, míg S_3 állapotban Mn^{4+} oxidációs állapotok fordulnak elő. A Mn-centrumban a Mn-ionok oxidált állapotai a következők szerint alakulnak:

$$\frac{2Mn^{3-}/2Mn^{\div-}}{(S_1)} \rightarrow \frac{Mn^{3-}/3Mn^{\div-}}{(S_2)} \rightarrow \frac{4Mn^{\div-}}{(S_3)} \rightarrow S_{\div} \rightarrow \frac{Mn^{2-}/Mn^{3-}/2Mn^{\div-}}{(S_0)}$$

A vízbontó komplexből az S_1, S_3 és S_4 állapotokban mérhető H^+-felszabadulás (1-1-2 arányban), amely megerősíti, hogy a vízbontó komplex állapotai a víz-molekulák különböző oxidáltsági állapotait képviselik. A részben oxidált, víz-molekulákból képezhető gyökök nagyon erős oxidálószerek, ezért a vízbontó komplex működésében különösen fontos, hogy ezek az intermedierek mindvégig kötött állapotban maradnak a komplex belsejében. A Mn-centrumban megtalálható Ca^{2+} és Cl^- szerepe az elektronátadási folyamatok szabályozásában/gyorsításában, és a komplex térszerkezeti stabilizálásába van. A Cl^- kísérletes kiszorítása a komplexből gátolja a $S_2 \rightarrow S_3$ átalakulást. Szerepe tehát elsősorban az, hogy egy vagy kettő Mn-ion redox-aktivitását változtatja meg. A Ca^{2+} szerepe jóval inkább strukturális, elsődlegesen a H_2O kötésének stabilizálásában van szerepe az oxidációs lépések alatt. Az O-O kötés az S_4-ben jön létre a Ca^{2+}-kötött hidroxil-csoport egyik átmeneti Mn-oxiddal (Mn^{5+}=O) szembeni nukleofil reakciója során. A reakció során O_2 szabadul fel, és a helyére $2H_2O$ kötődik be (S_0 állapot).

A PSII donoroldali reakciói – az akceptor-oldalhoz hasonlóan – időben eltérő sebességgel játszódnak le. Az $Y_Z \rightarrow P680^+$ elektronátadási lépés 20 ns alatt megy végbe, azonban ez az időtartam függ a vízbontó komplex oxidáltsági állapotától is. A Mn-komplex és a $Y_Z^{\cdot}$ között az elektronátadás hosszabb időt, 0,1-0,8 ms-ot vesz igénybe. A vízbontó komplexben a reakciók pedig a µs és ms időskála közötti időtartományban változnak: $S_0 \rightarrow S_1$ 30-50 µs, az $S_1 \rightarrow S_2$ 40-110 µs, az $S_2 \rightarrow S_3$ 100-350 µs, az $S_3 \rightarrow S_4 \rightarrow S_0$ 1,0-1,5 ms időtartamokat igényelnek. Mivel a $Y_Z \rightarrow P680^+$ több nagyságrenddel gyorsabb, mint a Mn-komplex$\rightarrow Y_Z^{\cdot}$ elektronátmenet, a Mn-komplex gyakorlatilag közvetlenül redukálja a $P680^+$ kationt. A PSII működésének összesített reakciósorozata végső soron a következőképpen írható fel:

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

$Q_B\ Q_A$ Feo P680 $Y_Z\ S_i \xrightarrow{\text{fény}} Q_B\ Q_A$ Feo P680* $Y_Z\ S_i$

$Q_B\ Q_A$ Feo P680* $Y_Z\ S_i \longrightarrow Q_B\ Q_A\ Feo^-\ P680^+\ Y_Z\ S_i$

$Q_B\ Q_A\ Feo^-\ P680^+\ Y_Z\ S_i \longrightarrow Q_B\ Q_A^-\ Feo\ P680^+\ Y_Z\ S_i$

$Q_B\ Q_A^-\ Feo\ P680^+\ Y_Z\ S_i \longrightarrow Q_B\ Q_A^-\ Feo\ P680\ Y_Z^{\cdot}\ S_i$

$Q_B\ Q_A^-\ Feo\ P680^+\ Y_Z^{\cdot}\ S_i \longrightarrow Q_B^-\ Q_A\ Feo\ P680\ Y_Z\ S_{i+1}$,

ahol Feo a feofitin-*a*, és i a vízbontó komplex aktuális állapotát jelzi. A PSII ezért egy fotoaktivált, H_2O:PQ oxidoreduktáz komplexnek is felfogható.

3.5.3. A citokróm b_6/f komplex működése

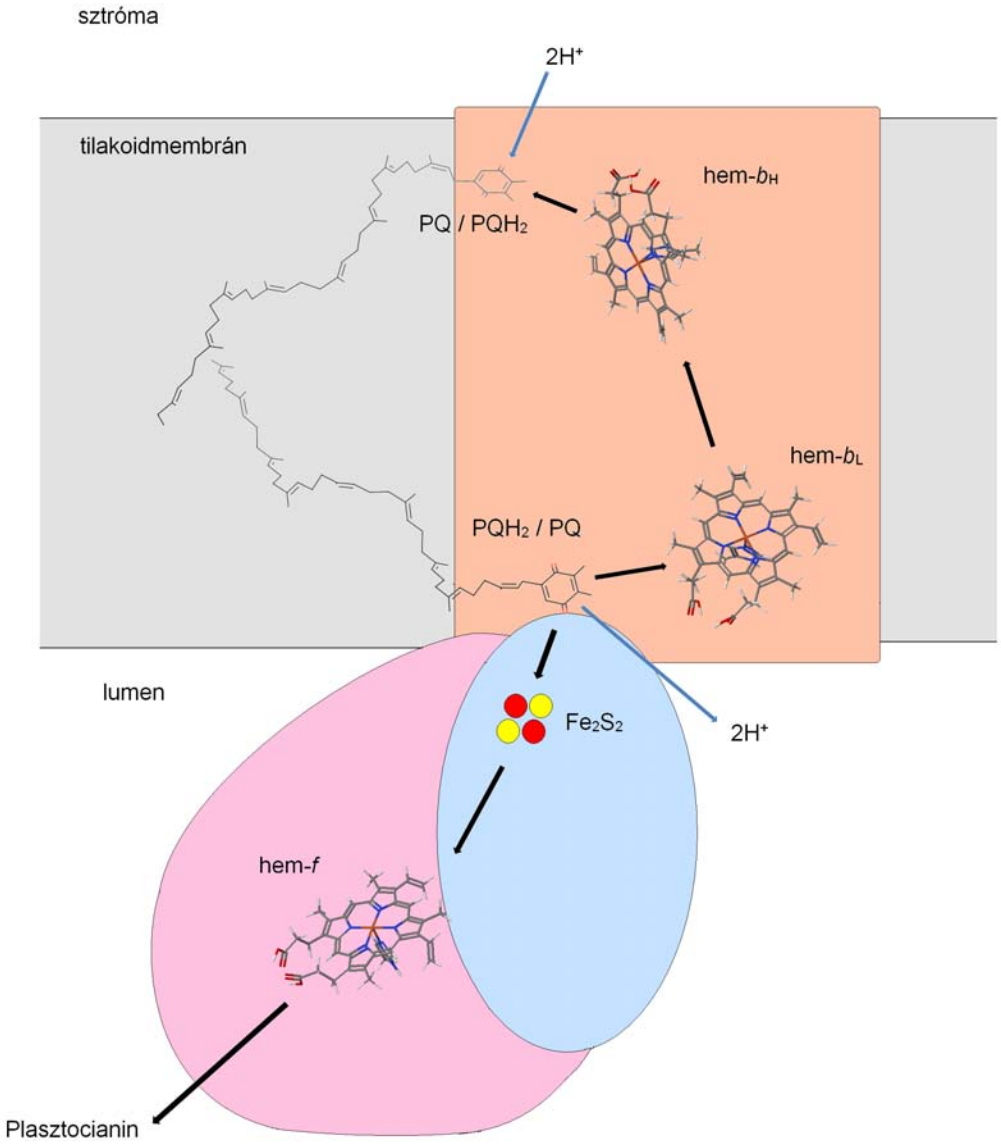
Duysens és **Sweers** kísérletei nyomán nyilvánvalóvá vált, hogy a fotoszintetikus elektrontranszportláncban, hasonlóan minden más szervezetben megtalálható elektrontranszportlánc-folyamatokhoz (mitokondriumok, különböző baktériumok), szerepe van citokróm komplexeknek. A PSII akceptor-oldali reakcióban redukált PQH_2 keletkezik, amely a PSII-ről leválva mobilis poolt képez a tilakoidmembránban. Ez a mobilis pool teremt kapcsolatot a PSI és a Cit b_6/f komplex között. A Cit b_6/f komplex, mivel csak strukturális pigmenteket köt (a kötött klorofill-*a* és β-karotin szerepe ismeretlen, sőt, rejtély), a fény energiáját nem hasznosítja. A benne végbemenő folyamatokat az elektronegativitás értékének növekedése (redukáló kapacitás csökkenése) jellemzi: a PQH_2 oxidációja és a Pc redukciója között 0,4 V elektródpotenciál-növekedés mérhető. Az elektródpotenciál növekedése miatt csökkenő energia azonban konzerválódik a komplex által létrehozott **transzmembrán protongradiens** formájában. A komplexben megtalálható Rieske-féle vas-kén protein a vas-kén fehérjék esetében szokatlanul magas, +0,3 V redox potenciállal rendelkezik.

A komplex két alapvető tulajdonsága: a PQH_2:Pc redox reakció, és a protongradiens létrehozása egymással kapcsolt folyamatok. Egy Cit b_6/f komplex két $PQ(H_2)$ kötőhellyel rendelkezik: egy a sztrómához, egy pedig a lumenhez közel eső oldalán. A PSII által redukált PQH_2 oxidációjáért a Rieske-féle vas-kén protein a felelős, amely a komplex lumenhez közelebb eső PQ-kötőhelyénél helyezkedik el. Erősen pozitív redox potenciálja miatt oxidálja a PQH_2-t, egy elektront átvéve attól. Az elektron átmenetileg a Fe_2S_2 centrumon marad, majd továbbadja azt a Cit *f* hem-*f* (hem-*c*) centruma felé. A Cit *f* egy oxidált Pc-kötőzsebbel rendelkezik, és az elektront a Pc felé továbbítja, amely redukálódva konformációt vált, és leválik a Cit b_6/f komplexről. A lumenhez közel eső PQ-kötőzsebben a visszamaradó szemokinon erősen negatív redox potenciálja miatt nem stabil, ezért a második elektronját a komplex Cit-b_6 első, alacsony redox potenciálú hemjének (hem-b_L) adja át. Az elektron innen a másik hem-*b* (magas redox potencialú hem, hem-b_H) felé jut tovább, amely ezt az elektront felvéve -0,1 V redox potenciálúvá válik. A PQH_2 oxidációját proton-leadás is kíséri: a két elektron leadásával párhuzamosan két H^+ is bejut a tilakoid lumenjébe. Az oxidált PQ leválik a komplexről és visszajut a PQ-poolba. A Cit b_6/f komplex azonban rendelkezik egy másik, sztrómához közel található PQ-kötőhellyel is. Ehhez a kötőzsebhez kapcsolódó PQ-t a redukált hem-b_H a magas redukciós potenciálja miatt egy lépésben szemikinonná, majd egy újabb elektron átadásával plasztokinollá redukálja. A plasztokinol a redukcióval párhuzamosan a sztróma hidrofil fázisából köt meg két H^+-t és PQH_2-vé alakul. A PQH_2 innen újra a kinon-poolba jut, és újra oxidálódhat a lumenhez közel eső kötőzseben. A Cit b_6/f komplexnek ezt a ciklikus működését **kinon-ciklusnak** (**Q-ciklus**) nevezzük (3.21. ábra). A Q-ciklus lehetővé teszi, hogy a kinonok által komp-mechanizmussal a membrán egyik oldaláról a másikra szállított H^+-k mennyisége megduplázódjon, amelynek a tilakoidmembrán energizálásában lesz szerepe. Egy PQH_2 nettó oxidációja, és két Pc redukciója négy H^+ felhalmozása kíséri a tilakoidembrán lumenjében. Összességében tehát a PSII reakciócentrumában négy fotokémiai reakció két vízmolekula oxidációját eredményezi, amellyel párhuzamosan négy H^+ kerül a tilakoid lumenjébe. A két vízmolekula bontásából származó elektronok két PQ-molekulát redukálnak, amelyek 4 H^+-t vesznek fel a sztrómából, majd adnak le a Cit b_6/f komplex oxidáló oldalán a lumen felé. A négy elektronból kettő azonban újabb PQ-molekulát redukál a Cit b_6/f komplex redukáló oldalán, amely PQ újabb két H^+-t szállít a sztrómából a lumenbe. A Cit b_6/f komplex végeredményében egy PQH_2:Pc oxidoreduktáz komplexnek is felfogható.

A Q-ciklusnak mind a lineáris, mind a ciklikus elektrontranszportban fontos szerepe van. A ciklikus elektrontranszportlánc működése során a 11 alegységből álló NADPH:PQ oxidoreduktáz komplex (NDH) a NADPH-ról származó elektronokat a Cit b_6/f segítségével a PQ-okra jutatja (PQH_2), amelyek a PSII felől elektronokat szállító PQH_2-molekulákkal megegyező módon oxidálódnak a komplex működése során. Általánosan

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

feltételezett, hogy közvetlenül a Fd-ról is juthatnak elektronok a PQ-ra, melyet például *ndh*-mutánsokkal is bizonyítottak. Nem ismert a konkrét mechanizmus és a folyamatban szerepet játszó fehérjék, feltételeznek azonban egy Fd-FNR-Cit b_{559} utat (PGR5), amelynek meglétére kísérletes bizonyítékok nem állnak rendelkezésre.



3.21. ábra A Citokróm b_6f komplex működése. A komplex működése során a redukált plasztokinol-molekulák a lumenhez közel eső kötőzsebben oxidálódnak: egy elektront adnak le a Fe_2S_2 centrum, míg egy másik elektront a hem-b_L felé, miközben két protont adnak le a lumenbe. A vas-kén centrumról az elektron a hem-*f*-re, majd onnan a plasztocianinra jut. A hem-b_L felé leadott elektron a hem-b_H-n keresztül a sztrómához közelebb eső kötőzsebben lévő oxidált plasztokinon-molekulát redukálja, amely szemikinonként nem szabadul fel, hanem egy következő ciklusban plasztokinollá redukálódik, mellyel párhuzamosan két protont vesz fel a sztrómából. Az így redukálódott PQH_2 a lumenhez közelebb eső zsebben újra oxidálódhat. A folyamat (Q-ciklus) tehát megtöbbszöröz a sztrómából a lumenbe juttatott protonok mennyiségét.

3.5.4. Az I. fotokémiai rendszer működése

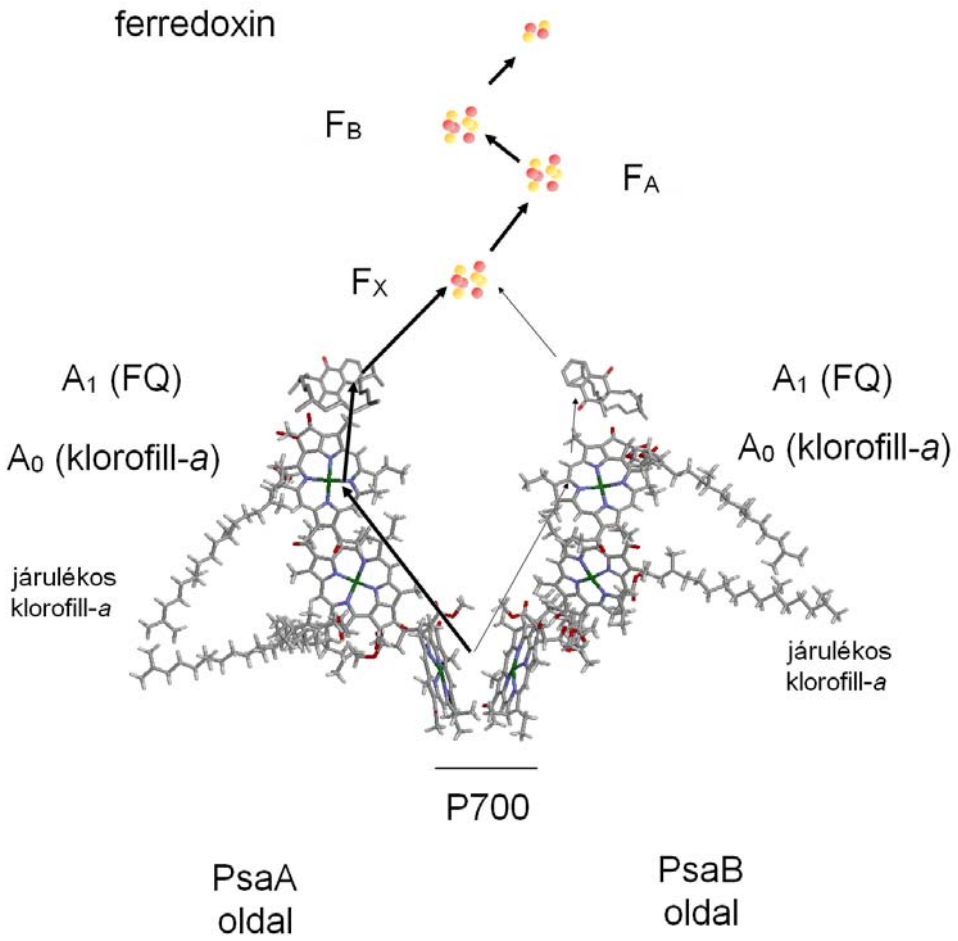
A plasztocianin redukált formájában képes a PSI-hez kötődni, így az általa szállított redukálóerő a PSI számára fog elektrondonorként jelentkezni. A PSI reakciócentruma a **P700** klorofill-*a*-*a'* dimer. Ahogyan a PSII reakciócentrumban a P680, úgy a P700 esetében is a fotokémiai reakció töltésszétválást eredményez. A PSII reakció centrummal analóg folyamatok játszódnak le: A gerjesztett P700* a π* lazító pályára kerülő vegyértékelektronját

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

egy A_0 kofaktornak adja le, amely kémiai szerkezetét tekintve egy járulékos klorofill-*a* molekula. A töltés azonban nem marad tartósan az A_0-n, hanem tovább adódik egy fillokinon- (FQ-) molekula felé (3.22. ábra). A PSII reakció centrummal analóg módon a stabil töltésszétválás a $P700^+$ és a redukált FQ között alakul ki. A szemikinonná alakuló FQ-ról az elektron a PSII core complexben kötött Fe_4S_4 centrumra kerül át (F_X). A F_X az elektront tovább adja két, szintén Fe_4S_4 szerkezetű vas-kén centrumnak (F_A és F_B). A PSII core complexhez a sztróma felől (tehát a vas-kén centrumokhoz közel eső oldalon, a PsaD és PsaE, pozitívan töltött fehérjéken elektrosztatikus kötéseken keresztül) kötődik egy mobilis ferredoxin (Fd), amely a kötött vas-kén centrumokkal ellentétben Fe_2S_2 vas-kén centrumot tartalmaz. A PSI tehát redukálja a mobilis Fd-t, amely így a PSI elektron akceptora lesz. A redukált Fd leválik a PSI-ről.

Az oxidált $P700^+$, a $P680^+$ kationhoz hasonlóan erősen oxidatív tulajdonságokkal rendelkezik, de elektródpotenciálja alacsonyabb annál. A leadott elektronját a Pc oxidálásából fedezi (a Pc a PSI core complex lumen felőli oldalán, a PsaF és PsaN fehérjéken kötődik, szintén elektrosztatikus kötésekkel). A PSI a Pc-ról származó elektronokat a sztrómában elhelyezkedő Fd felé továbbítja, amely két redox reakció közötti elektódpotenciál-különbséghez az energiát a fényenergia elnyelése szolgáltatja. A PSI tehát Pc:Fd oxidoreduktáz komplexként is értelmezhető.

A Fd számos más redukálókapacitás-valuta számára tud elektronokat átadni, melyek közül legnagyobb jelentősége a ferredoxin:$NADP^+$ oxidoreduktáz (FNR) közvetítette reakciónak van, amelyben redukált NADPH – a felépítő anyagcsere által általánosan használt redukálókapacitás-valuta keletkezik. Sok szabályozó és védekező mechanizmusban játszanak szerepet a tioredoxinok, melyek szintén a fotoszintetikus elektrontranszportláncból, ferredoxin:tioredoxin oxidoreduktáz enzim által katalizált elektronátadási reakcióban kapják redukáló erejüket.



3.22. ábra Az I. fotokémiai rendszer reakciócentrumában lejátszódó elektrontranszport-folyamatok. A gerjesztett P700-dimer egy elektront ad át az A_0 klorofill-*a* molekulának, amely az első fotokémiai rendszer primer töltéssztválási folyamata. A töltésszétválás a II. fotokémiai rendszerhez hasonlóan akkor válik stabillá, ha az A_0

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

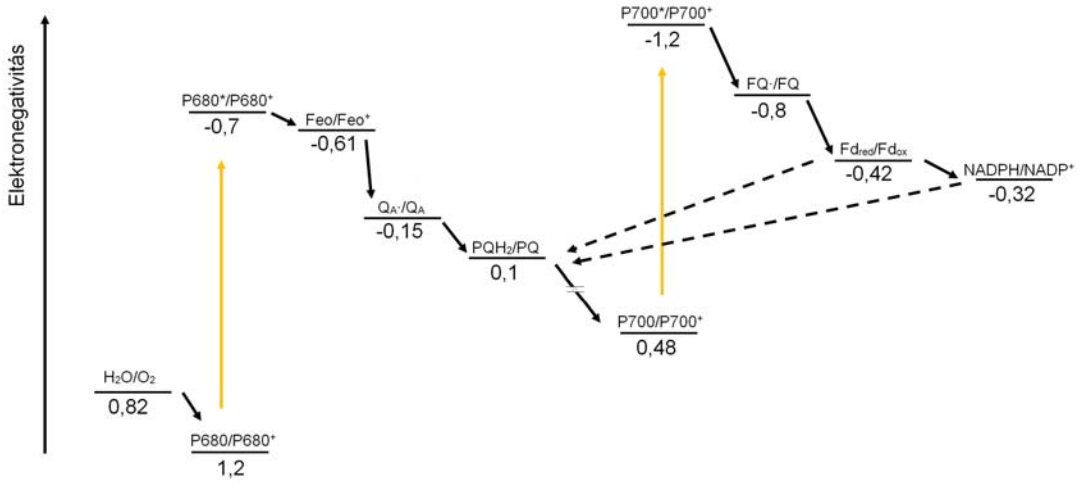
az elektront továbbadja az A_1 (fillokinon-) molekulának. A fillokinonról az elektron Fe_4S_4 centrumokon halad tovább (F_X-F_A-F_B), míg a sztróma felől kötődő ferredoxin Fe_2S_2 centrumára kerül. Eltérően a II. fotokémiai rendszer reakció centrumától, a PSI-ben mindkét (tehát a PsaA és a PsaB proteinen kötődő kofaktorokból felépülő) út működőképes, jóllehet a PsaA úton halad az elektronok döntő többsége.

3.5.5. Az elektrontranszportlánc által szállított elektronok útja: lineáris és ciklikus elektrontranszport

A fotoszintetikus elektrontranszportláncban a fény energiáját egymástól részben független fehérjekomplexek hasznosítják. Az energia két formában: redukált koenzimekben (NADPH) és a tilakoidmembrán két oldala között létrejövő elektrokémiai (proton-) gradiensben ($\Delta\mu H^+$) tárolódik. A víz, mint elektrondonor hasznosítása (az O_2/H_2O rendszer elektródpotenciálja 0,82 V) magas redox potenciálú oxidálószer részvételét igényli (a $P680^+/P680$ rendszer redox potenciálja 1,2 V). Ugyanez a reakciócentrum magasabb redox potenciálja miatt, gerjesztett állapotban sem képes a $NADP^+$ redukálására (a $P680^*/P680^+$ rendszer redox potenciálja -0,70 V, míg a Q_A^-/Q_A rendszeré csupán -0,15 V). A fotoszintetikus elektrontranszportláncban ezért egy újabb aktivációs energiára: egy újabb fotokémiai reakcióra van szükség. A $P700^*/P700^+$ rendszer jelentősen alacsonyabb elektronegativitású a $P680^*/P680^+$ rendszernél (-1,3 V körül mozog), így képes redukálni az akceptor-oldali redukálókapacitás-valutákat (így, többek között, a $NADP^+$/NADPH rendszer redox potenciálja -0,32 V, ami a biokémiai folyamatokban az egyik legkisebb érték). A vízről a NADPH-ra történő reakciónak a Gibbs-féle szabadenergia-igénye:

$$\Delta G = -n\times F\times \Delta E = -(2)\times(96{,}5 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1})\times(0{,}32 \text{ V}-0{,}82 \text{ V}) = 220 \text{ kJ (mol NADPH)}^{-1},$$

ahol n a töltések száma, F a Faraday-állandó és ΔE a redoxpotenciál-különbség. Összevetve ezt az összefüggést a fény abszorpciója hatására kiváltott szabadenergia-változással ($\Delta G = h\times(c/\lambda)\times N_A$) látható, hogy a PSII reakció centrum által hasznosított 680 nm hullámhossznak megfelelő fény 175 kJ mol^{-1} energiát, míg a PSI reakció centrum által hasznosított 700 nm hullámhosszúságú fény csak 170 kJ mol^{-1} energiát. szolgáltat. A fotoszintetikus elektrontranszportláncban részt vevő komplexek a donor- és az akceptor-oldali reakciók redox potenciál értékében mérhető különbségek átívelésére ezért tehát egymással szoros együttműködésben dolgoznak, köztük a kapcsolatot az elektrontranszportlánc mobilis komponensei (PQ, plasztocianin, ferredoxin) teremtik meg. Különböző együttműködéseik segítségével azonban három elektrontranszportlánc-típus: a **lineáris**, a **ciklikus** és a pszeudo-ciklikus (**víz-víz ciklus**) kialakítására képesek (3.23. ábra). Amíg a lineáris és a pszeudo-ciklikus elektrontranszportláncban mindkét fotokémiai rendszer szerepet játszik, addig a ciklikus elektrontranszportlánc működtetésében csak a PSI vesz részt. Mind a három elektrontranszportlánc-típus működése során létrejön elektrokémiai potenciálgradiens (H^+-gradiens, $\Delta\mu H^+$) a membrán két oldala között, azonban nettó, más szintetikus útvonalak számára felhasználható redukáló erő csak a lineáris elektrontranszportláncban keletkezik. Amíg a lineáris és a ciklikus elektrontranszportláncok a felépítő anyagcsere, különösen a CO_2-beépítés hátteréhez megfelelő ATP/NADPH szint kialakítása a szerepük, addig a víz-víz ciklus elsődleges szerepe a fotoszintetikus elektrontranszportlánc működése során keletkező reaktív oxigénformák (ROS) elleni védelemben van (10.6. fejezet).



XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.23. ábra A fotoszintetikus elektrontranszportlánc redox reakciók sorozataként értelmezhető, ahol az egyes részfolyamatok irányát az elektrontranszportlánc tagjainak elektronegativitása szabályozza. A két fotokémiai rendszer gerjesztett állapotban nagymértékű elektronegativitás-változáson megy keresztül, ami lehetővé teszi a nagy negatív elektronegativitás-értékkel rendelkező molekulák, így végső soron a $NADP^+$ redukálását. A lineáris elektrontranszport a klasszikus Z-séma útvonalát követi, még a ciklikus elektrontranszport (szaggatott vonal) során a redukálókapacitás-valutákra került elektronok újra a plasztokinon-poolt redukálják, ciklussá zárva az elektrontranszport útját. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

A lineáris elektrontranszport mind a három nagy tilakoidmembrán-komplex (PSII, Cit b_6f, PSI), mind a három mobilis elektronszállító (PQ, Pc, Fd) közreműködését igényli. A lineáris (víztől a NADPH felé haladó) elektrontranszportlánccal szemben a ciklikus elektrontranszportláncban a PSII nem, csak a PSI és a Cit b_6f komplex vesz részt. A redukálókapacitás-valutákra (Fd, NADPH) kerülő elektronok visszajuthatnak a fotoszintetikus elektrontranszportlácba, amely így ciklussá zárulhat (ciklikus elektrontranszport), nem termelve nettó redukáló erőt. A ciklikus elektrontranszportláncban, ahogy a nevéből is következik, nincs nettó redukált és oxidált termék, hiszen az elektronok egy „kört” járnak le – természetesen a PSI által elnyelt fényenergia, és az általa meghajtott fotokémiai reakció hatására. A PQ-pool felé az elektronok átadása kétféle úton lehetséges: az **NDH-függő út** esetén a PSI és az NDH által alkotott szuperkomplex a redukált NADPH:PQ redox reakciót katalizálja. Az **AA- (antimicin A-érzékeny) út** a Fd:PQ redox reakciót katalizálja. Kulcsenzime a PRGL1, amely nagy valószínűség szerint egy Fd:PQ oxidoreduktáz, és a Fd oxidálását végzi a PGR5 és az FNR fehérje közreműködésével, miközben a sztróma felől redukálja a PQ-okat. Működés közben szintén szuperkomlexet alkot a PSI és Cit b_6f komplexekkel.

A lineáris és a ciklikus elektrontranszportlánc működése szövettájanként eltérő lehet (3.9. fejezet), de ha egyazon kloroplasztisz tilakoidmembránjából mindkét folyamat kimutatható, a ciklikus elektrontranszportlánc nagy valószínűséggel akkor is elkülönül a lineáristól: a ciklikus elektrontranszportláncban részt vevő membrán fehérjekomplexek szuperkomplexbe tömörülnek. A lineáris és a ciklikus elektrontranszport azonban verseng egymással az oxidált, elektront felvenni képes Fd-ért, ezért egy kloroplasztiszon belül a két elektrontranszportlánc egymáshoz képesti arányát a kloroplasztisz oxidációs állapota és nem utolsó sorban a PSI donor és akceptor oldala közötti oxidációs egyensúly szabályozza. Bár a ciklikus elektrontranszportlánc folyamatait több mint 50 éve ismerjük, C3 növényekben (3.7. fejezet) a jelentőségét csak a közelmúltban ismertük meg. C3 növényekben a ciklikus elektrontranszportnak kevés jelentőséget tulajdonítottak korábban, ma azonban már ismert, hogy olyan jól meghatározott körülmények között, mint a szárazság, a magas fényintezitás vagy az alacsony légköri CO_2-koncentráció mellett jelentősen hozzájárul a teljes fotoszintetikus aktivitáshoz. A cianobaktériumok O_2-érzékeny, N_2-megkötésért felelős heterociszták iban (6.1.1. fejezet) csak PSI található meg a két fotokémiai rendszer közül, így ott csak a ciklikus elektrontranszportlánc működik. Cianobaktériumokban és C_4 növényekben a ciklikus elektrontranszportlánc működéséért az NDH-függő út a felelős elsősorban. Ezzel szemben C3 növények esetében, tehát olyan kloroplasztiszokban, ahol a lineáris és a ciklikus elektrontranszport párhuzamosan és egymás mellett működhet, a PRG5-függő út játszik szerepet.

3.5.6. Fotoszintetikus elektrontranszportlánc bakteriális fotoszintetizáló szervezetekben

A legtöbb bakteriális fotoszintetizáló szervezet, így a bíbor kén- és nem-kén baktériumok is csupán egyetlen fotokémiai rendszer tartalmaznak. Fotoszintetikus pigmentjeik közül az infravörös tartományban elnyelő bakterioklorofill-*a* dimer alkotja a reakció centrumot – fotoszintézisükben ezért a két fotokémiai rendszerrel rendelkező szervezeteknél alacsonyabb energiájú sugárzást használnak. A fotokémiai rendszer elektron akceptorai között kinon típusú vegyületeket találunk, amelyek kémiai felépítésüket tekintve menakinonok (**Q-típusú reakciócentrum**). A kinon-akceptorról az elektron egy citokróm-komplexre (Cit b/c_1 komplex), jut, ahonnan az elektronok azonban az egyetlen fotokémiai rendszer felé jutnak vissza a mobilis Cit c_2 segítségével. A redukáló erőt a NADH dehidrogenáz komplex segítségével állítják elő, a redukált kinon-pool oxidálásának terhére.

A zöld kénbaktériumok (*Chlorobii*) fotoszintetikus elektrontranszportlánca megegyezik ezzel az alapfelépítéssel, azzal a különbséggel, hogy a gerjesztett reakció centruma elég alacsony redox potenciállal rendelkezik a ferredoxin redukálásához (**Fe-S-típusú reakciócentrum**), amelyről a szállított elektronok szintén NAD^+-ra kerülhetnek. A reakciócentrum az elektronhiányt a H_2S, mint elektrondonor-molekula szulfáttá történő oxidációjával fedezi.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.5.7. Fotofoszforiláció

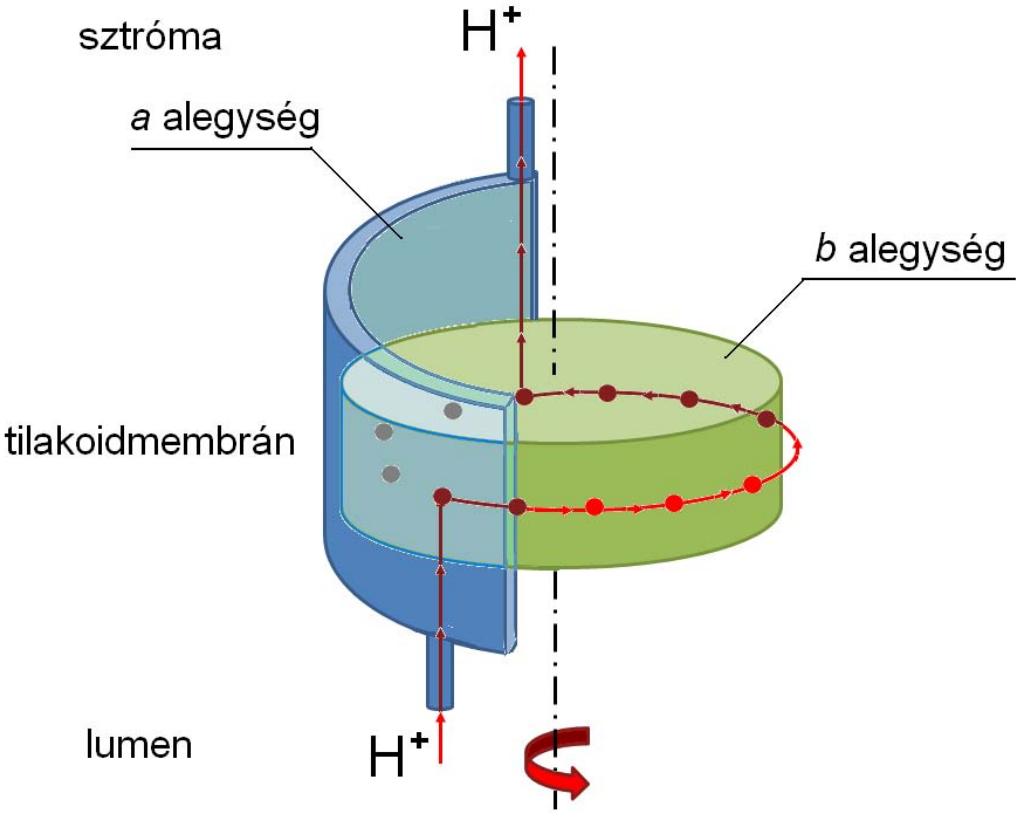
Az elektrontranszport lánc működése közben protongradiens ($\Delta\mu H^+$) alakul ki a tilakoidmembrán két oldala között: a tilakoid lumenében pozitív töltések halmozódnak fel. Ennek oka, hogy a PQ-ok a PSII, illetve Cit b_6f komplexek által történő redukciója után töltéssemlegességhez protonokat a sztrómából veszik fel, míg a Cit b_6f komplexen végbemenő re-oxidációjuk során ezeket a protonokat a lumen felé adják le. A PSII vízbontó centrumának működése során a vízből származó H^+-ok szintén a lumen oldalon halmozódnak fel. A fotofoszforiláció jelenségét először **Daniel Arnon** ismerte fel 1954-ben. Tilakoidmembránokat megvilágítva azt tapasztalta, hogy ADP-ből, foszfátionok jelenlétében nagy energiájú ATP-molekulák keletkeztek. A reakció NADPH-termeléssel is kapcsolt volt – mint ma már ismeretes, fotoszintetikus elektrontranszportlánc jóvoltából. Arnon eredménye meglepte a korabeli tudományos világot, hiszen az ATP termelésének helyét növényekben is a mitokondriumokba helyezték. A mitokondriumok oxidatív foszforilációjától megkülönböztetésül kapta a folyamat a fotofoszforiláció nevet. A foszforiláció közvetlen hajtóerejére **André Jagendorf** 1966-os kísérletei adtak bizonyítékot. Jagendorf izolált tilakoidmembránokat savas pufferben (pH 4) inkubált sötétben, majd a membránokat egy enyhén lúgos (pH 8), ADP-t és P_i-t tartalmazó pufferbe helyezte, amelynek hatására sötétben is beindult az ATP szintézis. A folyamatokra **Peter Mitchellkemiozmotikus hipotézise** (1961) adott magyarázatot (amely elméletért Mitchell 1978-ban kémiai Nobel-díjat kapott). Mitchell elmélete szerint az ATP-szintézis energetikai igényét a (tilakoid)-membrán lumenjében felhalmozódó pozitív töltések a sztróma felé irányuló elektrokémiai gradiense, illetve az azt kiegyenlítő töltésáramlás fedezi. Az ATP, mint kétszeres savanhidrid-molekula, nagyenergiájú kötésekkel rendelkezik, bomlása esetén standard körülmények között $\Delta G^{0'} = 30{,}5$ kJ mol^{-1} szabadenergia szabadul fel. Mivel az élő sejtekben az ATP, ADP és P_i koncentrációja szabályozott, ezért *in vivo* körülmények között az ATP bomlása 47,8 kJ mol^{-1} szabadenergia-felszabadulást jelent. Az ATP bomlásához hasonlóan a pozitív töltések kiegyenlítődésének is van szabadenergia-felszabadulása, amelyet a van't Hoff egyenlet ír le:

$$\Delta G = R \times T \times ln \frac{[H^+]_B}{[H^+]_A} [\text{J mol}^{-1}]$$

ahol $[H^+]_B$ és $[H^+]_A$ a tilakoidmembrán két oldalán a protonok koncentrációja, R az univerzális gázállandó és T a hőmérséklet. A protonok mozgására más pozitív és negatív töltések is hatást gyakorolnak, így végül a protonok áthaladása a tilakoidmembránon $\Delta G = -14{,}3$ kJ mol^{-1} energiát szolgáltat. Egy ATP-molekula szintézisének energiáját tehát legalább 4 proton membránon történő átjutása fedezi. Az elektrokémiai protongradiens szerepét mutatja az ionofór vegyületek ATP-szintézist gátló hatása is: az ionofórok koncentrációgradiens mentén szállítanak töltéseket a membrán két oldala között. A protongradienst megszüntetve gátolják az ATP-szintézist.

A protongradiensben, mint elektrokémiai gradiensben tárolt energia terhére képes a tilakoidmembránban (sztróma-, illetve marginális gránumtilakoidokban) lokalizált, bakteriális jellegű CF_1-CF_o ATP-szintáz az ATP szintézisére. Ez a folyamat a fényenergia nagyenergiájú kémiai kötéssé (savanhidrid kötéssé) történő átalakítását jelenti. A szintéziséhez szükséges kinetikai energia az ATP-szintáz tilakoidmembránba ágyazódó CF_o alegységének ciklikus protonálódási/deprotonálódási folyamatai következtében jön létre, mellyel együtt jár a proton transzlokációja is (3.24. ábra). A protoncsatornát a III_{14} láncok hélixei képezik, melyek körben állva gyűrűszerű struktúrát alkotnak a tilakoidmembránban. Az egyes láncok a tilakoid lumen felőli oldalán protonálódnak a III. és IV. alegységekből képződő protoncsatornán keresztül. A protont a III. alegység egy aminosava, a $IIIGlu_{61}$ köti meg, amely így töltését vesztve, a fehérjelánc konformáció-változását idézi elő (felületi töltések megváltozása), majd a hidrofób belső felé helyeződik át. A konformáció-változás hatására a CF_o gyűrű egy másik, III. alegységének protonált Glu_{61} aminosava, az ellentétes oldalon, a sztróma felé nyitott hidrofil csatorna irányába helyeződik át és ezt követően deprotonálódik: egy protont a sztrómába juttatva. A protonfelvétel és -leadás, így a forgás irányát is, mindenkor az aktuális sztróma-lumen ΔpH határozza meg.

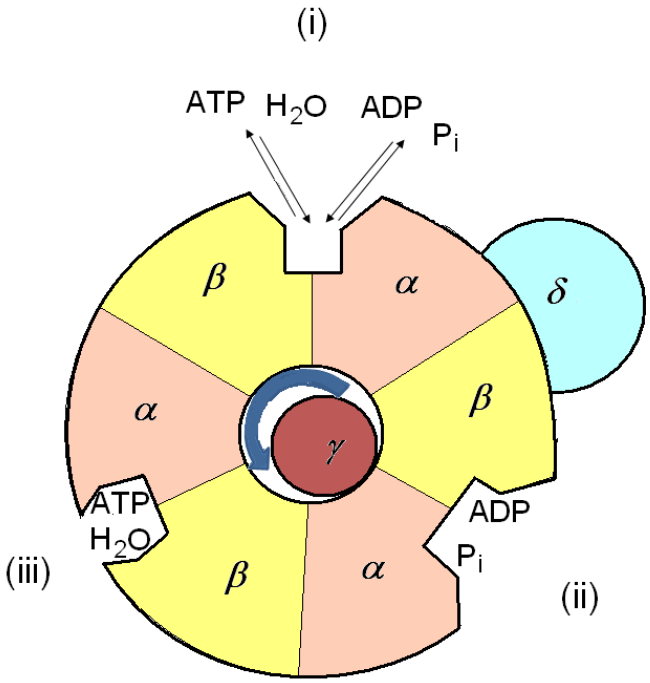
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.24. ábra Az ATP szintáz CF_o alegységének működése. A lumenben felhalmozott protonok az *a* alegység csatornáján keresztül jutnak be a tilakoidmembránban elhelyezkedő *b* alegység láncaihoz, ahol egy glutamát-oldalláncot protonálnak. A protonálódás hatására a *b*-lánc konformációt vált, és elmozdul az *a* alegységhez képest. A folyamattal párhuzamosan egy glutaminsav-oldallánc a kilépő csatorna közelébe kerül, ahol deprotonálódik, és a felszabaduló proton a sztrómába jut. A protonálódási és deprotonálódási folyamatok sorozatos konformáció-változásokat eredményeznek a *b* alegység szerkezetében, amely forgó mozgást indukál az *a* és a *b* alegység között.

A CF_1 alegység („fej") az enzim-komplex statikus alegysége. A CF_1 alegységen belül az enzimatikus funkcióért az $\alpha\beta$ heterodimerek felelősek, amelyek trimerizálódva alkotják a CF_1 alegység fő szerkezeti elemét. Az $\alpha\beta$ heterodimerekben az aktív centrum a β fehérjeláncon található. Működés szempontjából a heterotrimereknek három funkcionális állapotát lehet elkülöníteni: (i) ATP leválás, (ii) ADP + P_i kapcsolódik a kötőhelyhez és (iii) ATP szintézis (3.25. ábra). Mivel a rotorikus alegység egy teljes kört fordulva mindhárom heterotrimer konformációját egymás után megváltoztatja, az egyes funkcionális állapotok a rotor egy-egy 120°-os elfordulási szakasznak feleltethetőek meg. A bekötődés során először az ADP, majd egy következő lépésben a P_i köt az aktív centrumba. A forgómozgásban testet öltő kinetikai energia a „tengely" (CF_1 alegység γ fehérjéje) segítségével, áttételével a $CF_1\alpha\beta$ működési egységeinek konformáció-változását okozza. A rotorikus alegység elfordulása miatt sorozatos konformáció-váltásokra kényszerül. A konformáció változások elősegítik az fejkomplexről az ATP leválását és kicserélését ADP-re és P_i-re, amely az ATP-szintézis energiaigényes folyamata. Az ADP és P_i kötődése, valamint a foszfát-savanhidrid kötés kialakítása energiát nem igénylő folyamatok. A kinetikai energia átadásában a γ alegység aszimmetrikus felépítésének van fontos szerepe: az aszimmetrikus régió forgása okoz konformáció-változást a heterodimerek felépítésében. Az enzimaktivitáshoz egy Mg^{2+} jelenléte szükséges, amely koordinációs kötésekkel lazítja a savanhidrid-láncot.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.25. ábra Az ATP szintáz CF_1 alegységének működése. A rotorikus alegység forgásának kinetikai energiáját a γ alegység közvetíti az αβ heterodimerekből felépülő fej felé. A három heterodimer egy adott időpillanatban más-más funkcionális állapotban van: (i) ATP leválás/ADP kötődés, (ii) ADP+P_i laza kötése és (iii) az ATP szintézis katalízise (szoros kötés).

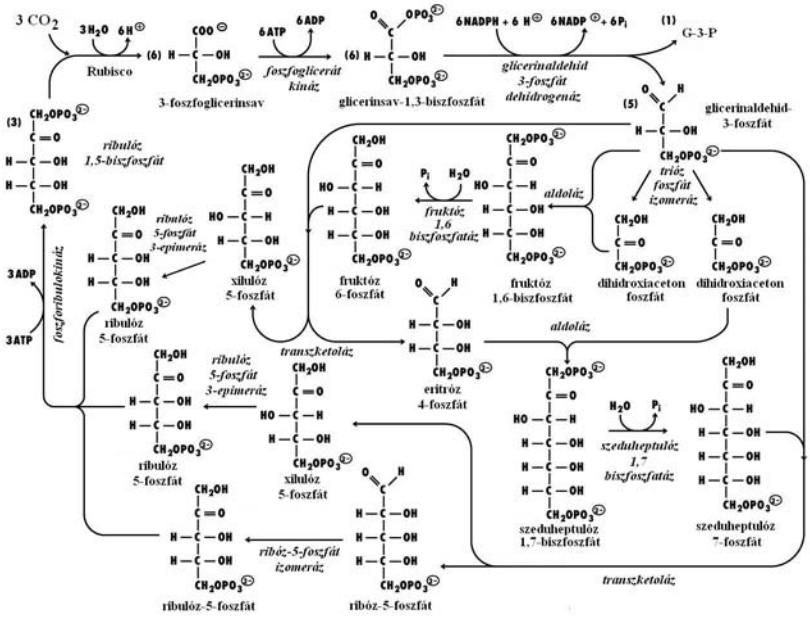
3.6. A szén-dioxid megkötése és redukciója

Az **autotróf szervezetek** egyedülálló sajátossága, hogy a légköri szén-dioxid megkötésével, beépítésével és redukciójával képesek szerves vegyületeket előállítani. A kemoszintézis oxidációs lépései, illetve a fotoszintézis fényreakciói során jönnek létre a szén-dioxid megkötés energetikai feltételei, az ATP és a NADPH.

3.6.1. A C_3-as CO_2-megkötés felfedezése

Az 1940-es évek végén kezdték meg Calvin, Benson, Bassham és munkatársai a szén-dioxid megkötés folyamatainak felderítését, jóllehet ekkor még váratott magára az ATP és a NADP felfedezése és szerepének tisztázása. Calvin és mtsi kísérleteikben a ^{14}C izotóppal jelzett HCO_3^-- at használták (a ^{14}C-t már korábban felfedezték), amelynek beépülését *Chlorella pyrenoidosa* és *Scenedesmus obliquus* egysejtű zöldalgákban vizsgálták. A keletkezett jelölt termékeket két-dimenziós papírkromatográfiával választották el és autoradiográfiásan értékelték. Ennek során derült fény arra, hogy a CO_2 megkötés első stabil terméke a glicerinsav-3-foszfát (Gs-3-P). Azonosították a CO_2 megkötésében és redukciójában szereplő enzimeket és intermediereket, amelyek egy része analóg volt már más anyagcserefolyamatokban megismertekével. Más enzimeket és intermediereket, elsősorban a regenerációs fázisból, azonban ekkor írtak le először (transzketoláz, ribóz-5-foszfát izomeráz, ribulóz-5-foszfát epimeráz, szeduheptulóz-1,7-biszfoszfát aldoláz, szeduheptulóz-1,7-biszfoszfatáz). Ez a munka az 1950-es évek elején folyt. A folyamat utolsó lépéseként azonosították a folyamat primer akceptorát, a ribulóz-1,5-biszfoszfátot (Ru-1,5-BP). Calvin a teljes folyamatot 1956-ban mutatta be a Brit Kémiai Társaság előadásán „The Photosynthetic Carbon Cycle" címmel, majd a „The Path of Carbon in Photosynthesis" című könyvében tette közismertté. Calvin e munkájáért 1961-ben kapott Nobel-díjat. A CO_2 megkötés általa leírt útját nevezik Calvin-ciklusnak, illetve reduktív pentózfoszfát-ciklusnak (RPP), és a primer termék szénatomszáma alapján a CO_2 megkötés C_3-as útjának (**3.26. ábra**).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.26. ábra A CO_2 megkötés C_3-as útja, a Calvin-ciklus

Miközben egyre jobb izolálási eljárásokat fejlesztettek ki, kimutatták a ribulóz-1-5-biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz (Rubisco), a ribulóz-1,5-foszfát kináz és a NADP-glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz aktivitását a kloroplasztiszban. További jelentős munka volt a CO_2-megkötésben részt vevő enzimek lokalizációja, az izoenzimek felderítése, kompartmentizációjuk tisztázása (sok közös enzim van a glikolízisben, a glukoneogenezisben és az oxidatív pentózfoszfát-ciklusban – OPP-ciklus). Tisztázták pl., hogy az OPP-ciklus a citoplazmában és a kloroplasztiszban is jelen van.

3.6.2. A Calvin-ciklus reakciói

A Calvin-ciklus kulcsfontosságú enzimének, a Rubisco karboxiláz aktivitásának következménye egy hat szénatomos intermedieren (2-karboxi-3-keto-arabinitol-1,5-biszfoszfát) keresztül 2 molekula glicerinsav-3-foszfát (Gs-3-P) keletkezése. Ez a ciklus CO_2 megkötésének szakasza.

A Calvin-ciklus második lépésében a Gs-3-P glicerinsav-1-3-biszfoszfáttá (Gs-1,3-BP) alakul ATP felhasználásával. A folyamatot a 3-foszfoglicerát-kináz enzim katalizálja, amely a glikolízisben is szerepel, ahol a fordított reakció játszódik le. A reakció a képződés felé van eltolva és az ADP/ATP arány befolyásolja.

A következő lépésben a Gs-1,3-BP-nak glicerinaldehid-3-foszfáttá (G-3-P, PGA) történő redukcióját egy NADP-függő dehidrogenáz, a fényregulált glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz végzi. Ennek a reakciónak a sebességét a NAPH képződése szabályozza és így ez a lépés az előbbivel együtt szoros kapcsolatban van a fotoszintézis fényreakcióival. Ez a ciklus redukciós szakasza.

A G-3-P egyensúlyt tart fenn izomerjével, a dihidroxiaceton-foszfáttal (DHAP), amely reakciót a trióz-foszfát-izomeráz katalizálja. Az egyensúly a DHAP képződése felé van eltolva.

A következő reakció során a G-3-P és a DHAP egy aldoláz reakció eredményeképpen összekapcsolódik és fruktóz-1,6-biszfoszfátot (Fr-1,6-BP) képez.

A következő lépésben a Fr-1,6-BP-ról hidrolízissel leválik az egyik foszfát csoport és fruktóz-6-foszfát (Fr-6-P) keletkezik. A reakciót a fruktóz-1,6-biszfoszfatáz katalizálja a kloroplasztiszban, ami különbözik a citoplazmában lokalizált hasonló enzimtől. A reakció a Fr-6-P képződése felé van eltolva. Ez az enzim is fényrszabályozott.

Ezt követően egy transzketoláz reakció játszódik le, melynek során a Fr-6-P-ról az első két szénatom áttevődik egy G-3-P-ra. A reakció eredményeképpen eritróz-4-foszfát (E-4-P) és xilulóz-5-foszfát (Xu-5-P) keletkezik. Az enzim működéséhez tiamin-pirofoszfát és Mg^{2+} is szükséges és a reakció reverzibilis.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A reakciósorozat következő lépésében az E-4-P és a DHAP egy aldoláz reakcióval egy hét szénatomos cukorfoszfátot, a szeduheptulóz-1,7-biszfoszfátot (Sz-1,7-BP) adja. A reakció hasonló módon játszódik le, mint ahogyan a Fr-1,6-BP keletkezett.

A következő lépésben a Sz-1,7-BP-ról az egyik foszfát lehidrolizál és szeduheptulóz-7-foszfát (Sz-7-P) keletkezik. A reakciót a szeduheptulóz-1,7-biszfoszfatáz katalizálja. A reakció teljesen analóg Fr-1,6-BP hidrolízisével.

A továbbiakban a Sz-7-P transzketoláz reakcióban vesz részt a G-3-P-tal, melynek eredményeképpen két ötszénatomos cukorfoszfát, a ribóz-5-foszfát (R-5-P) és a xilulóz-5-foszfát (Xu-5-P) keletkezik. A reakció teljesen analóg a Fr-6-P-ról történő ketol átvitellel. A reakció egy izomerizáció, ahol a 3. C-atomon megváltozik az –OH és a –H orientációja, azaz a két cukorfoszfát egymás epimerje. A folyamat reverzibilis.

A Sz-7-P-ról történő transzketoláz reakció másik terméke, a R-5-P szintén át tud alakulni ribulóz-5-foszfáttá (Ru-5-P) a ribóz-foszfát-izomeráz enzim közreműködésével. E reakció során egy aldopentóz-ketopentóz átalakulás zajlik le, ami szintén reverzibilis folyamat.

A ciklus zárólépéseként a Ru-5-P-ból egy foszforilációval ribulóz-1,5-biszfoszfát (Ru-1,5-BP, továbbiakba RuBP) keletkezik, és ezzel regenerálódott a ciklus primer CO_2-akceptor molekulája. A reakció ATP-igényes és a foszforibulo-kináz katalizálja (PRK). A reakció egyensúlya erősen el van tolva a RuBP képződésének irányába. Ez az enzim is fényaktivált, de adenilát kontroll alatt is áll.

A Calvin ciklus teljes lezajlása során CO_2 molekulánként 2 NADPH és 3 ATP molekula használódik fel. A folyamat 3 fő fázisra tagolható: a CO_2 megkötése (karboxiláció), a megkötött CO_2 redukciója és a továbbiakban a primer akceptor molekula regenerációja a fent bemutatott lépéseken keresztül. Az újabb kutatások szerint bővült a Calvin-ciklus intermedierjeinek száma, további öt szénatomos (arabinóz-5-foszfát), illetve nyolc szénatomos molekulákkal (oktulóz-1,8-biszfoszfátok), valamint olyan enzimekkel, amelyek e molekulák képződésében, illetve átalakulásában vesznek részt. A ciklus azonban nem feltétlenül megy végbe a leírt „irodalmi” módon, hiszen az egyes intermedierek szintjén lehetőség van a szénvázak elszívására, illetve betáplálására a kloroplasztiszban, illetve a sejtben lejátszódó folyamatok igénye szerint.

3.6.3. Rubisco

3.6.3.1. A Rubisco szerkezete

Ez az enzim a CO_2-megkötés kulcsenzime. A legjelentősebb és a legnagyobb mennyiségben előforduló fehérje a növények kloroplasztiszaiban és a legnagyobb mennyiségű fehérje a Földön. A Rubisco által megkötött CO_2 mennyisége kb. 10^{11} tonna/év (az éves kőolaj felhasználás kb. 10^9 tonna/év). Amikor a szerepét még nem ismerték Frakció I protein néven volt ismert. Koncentrációja a kloroplasztisz sztómájában igen magas, kb. 8-10 mM/ml. Ez messze több mint a potenciális szubsztrát koncentráció, ami 7 µmol CO_2/ml, 250 µmol/ml O_2 és megközelíti a RuBP koncentrációját. A rendkívüli élettani szerepe mellett a Rubisco egy „gyenge” katalizátor, alacsony CO_2 affinitással és alacsony hatásfokkal, ami 3 reakció s^{-1} (turnover number). Ezért a fotoszintetizáló szervezetek a szintetikus kapacitásuk jelentős részét ennek az enzimnek az előállítására fordítják. Nagy molekulatömegű fehérje, 560-600 kD. Az enzim kétféle alegységből áll, L nagy (~50 kD) és S kis (12-18 kD) alegységekből. Cianobaktériumokban és magasabb rendű növényekben általános az L_8S_8 szupramolekuláris szerveződés, a „Form I” Rubisco, ahol az L alegységek dimerekből épülnek fel és ezek a dimerek az ősi L_2-re hasonlítanak. Az L_8S_8 ott fordul elő, ahol a CO_2-megkötés Calvin-ciklussal történik, azaz a legtöbb fotoszintetizáló baktériumban, a cianobaktériumokban és a magasabb rendű növényekben. Jóval később találták meg az L_2 szerveződésű enzimet, a „Form II” Rubisco-t, amelyet *Rhodospirillum rubrum*-ban írtak le, majd később ezt az L_2-t mutatták ki *Rhodobacter sphaeroides*-ben is. L_2, ill. L_{4-6} Rubisco előfordul különböző fotoszintetizáló bíbor kén-baktériumokban (Rhodospirillaceae*)* is.

Az enzim alegységeinek genetikai lokalizációját, szintézisét különböző módszerekkel derítették ki. Prokariótákban az L és S alegységet (ahol van) kódoló gének ugyanabban az operonban vannak. Az alegységek szintézise és összeépülése funkcionális oligomerré a citoszólban történik. Magasabb rendűekben az L alegység a plasztiszban kódolódik (plasztom) és szintetizálódik. Az L alegység génje 1-2 kópiában található homogén gén (*RbcL* gének), mennyisége igen magas is lehet (500.000 gén/sejt). Az S alegység a magban (genom) kódolt, génje 2-10 kópiában fordul elő, heterogén, multigén családot alkot (*RbcS* gének). Prekurzor polipeptid formájában szintetizálódik a citoplazmában és transzportálódik a plasztiszba. A zöldalgák és a magasabb rendűek S alegysége tartalmaz egy

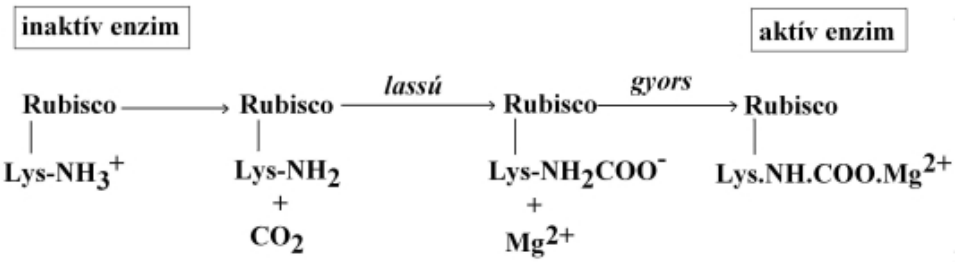
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

16 aminosavból álló tranzitpeptidet, ami a kloroplasztiszba történő belépés során és az összeépülés előtt levágódik. Ilyen tranzit szekvencia prokariótáknál nincs.

Az olyan komplex fehérjék, mint a Rubisco, helyes összeállításában, szerveződésében, oligomerizációjában olyan fehérjék működnek közre, amelyek nem válnak a komplex részévé. A sejtben ugyanis számos lehetőség van arra, hogy a molekulák olyan kölcsönhatásba lépjenek az intracelluláris környezet egyes elemeivel, amely szerkezetük sérüléséhez, funkcióik elvesztéséhez vezethet. Ezek a nemkívánatos kölcsönhatások már a monomerek konformációját is károsan befolyásolhatják, de az oligomer struktúrák negyedleges szerkezetét, illetve funkcióit különösen zavarhatják és ezért a molekulák „önépítése" zavart szenvedhet. A Rubisco pontos szerkezetének biztosítására („folding") további „segítő" fehérjék, **chaperonin**ok, szükségesek, amelyek jelenléte elengedhetetlen az L és S alegységek, illetve a Rubisco helyes struktúrájának összeállításához.

3.6.3.2. A Rubisco működése

A Rubisco sajátossága, hogy kétféle enzimaktivitással rendelkezik, karboxiláz, illetve oxigenáz funkciója van. A két enzimaktivitás között az enzim mikrokörnyezetében lévő két szubsztrát, a CO_2 és az O_2 aktuális koncentrációjának viszonya a meghatározó. A karboxiláció CO_2 beépüléshez, új szénláncok képződéséhez, nettó fotoszintetikus produkcióhoz vezet. Az oxigenáció a már korábban megkötött szén szabaddá válását idézi elő és a lezajló folyamatsor, a fénylégzés (fotorespiráció) csökkenti a fotoszintetikus produkciót (lásd: 3.6.5. fejezet).

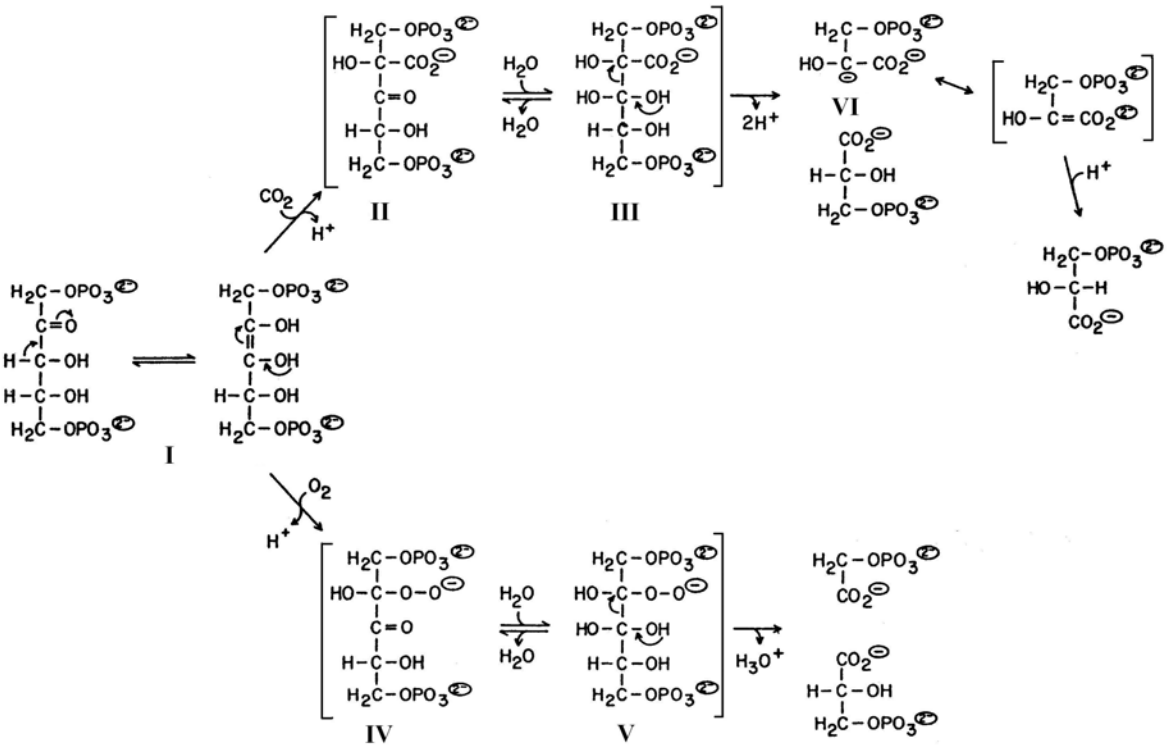


3.27. ábra A Rubisco aktivációja

Az enzim alaphelyzetben (üres aktív hellyel) inaktív. Aktiválásához az enzim egy CO_2 molekulával reverzibilisen karbamilálódik, ami az aktív helyen lévő lizin ε-aminocsoportján történik meg. Ez az állapot azonnal egy Mg^{2+} ionnal stabilizálódik **(3.27. ábra)**. Ez a lépés a teljes enzimreakcióban „rate-limiting", sebesség meghatározó. A képződött endiol négy reakciót mutat: két reakció a C-2-n (karboxiláció vagy oxigenáció) és két reakció a C-3-on, ami reprotonáció és Xu-1,5-BP, illetve RuBP képződéséhez vezet.

Az aktivált Rubisco a szubsztrátját, a RuBP-ot köti meg, amely endiollá alakul (2,3-endiol, **I**) és reakcióba lép a CO_2-al, vagy az O_2-el. Ha karboxiláció történik, akkor a RuBP 3. szénatomján deprotonáció következik be. A karboxiláció C-2 nukleofil központtal történik meg (**II**). A reakció feltételezett intermedierjét már Calvin jelezte 1950-ben, ami végül 2-karboxi-3-keto-arabinitol-1,5-biszfoszfátnak (**III**) bizonyult. Egy ehhez hasonló vegyületet, a 2-karboxi-arabinitol-1-foszfátot (CA1P) csak később azonosítottak, mint a Rubisco természetes inhibitorát, sötétben tartott levelekben.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.28. ábra A Rubisco karboxiláz és oxigenáz aktivitása. Az egyes vegyületek neveit (**I-VI**) lásd a szövegben.

A hidratált 3-keto intermedier (**III**) (geminális diol) is még enzimkötött. A következő lépésben a Gs-3-P képződése, a C-2 és C-3 közötti kötés hasítása révén, lassú és visszreakció nem figyelhető meg (**VI**). Az egyik Gs-3-P a RuBP C-3, C-4 és C-5 szénatomjaiból, a másik a RuBP C-1, C-2 szénatomokból és a megkötött CO_2-ból származik. A karboxiláció hatékonyságát nem csak az oxigenáció ronthatja, hanem endiol szinten a C-3 protonáció helytelen lefolyása is, 400/1 valószínűséggel. Ez a reakció így Xu-1,5-BP-ot eredményez, ami egyébként a Rubisco egy potens inhibitora és igen lassan metabolizálódik. Egy másik inhibitor sajátosságú molekula is képződik C-2 szinten hibás protonáció során és ez a 3-keto-arabinitol-1,5-biszfoszfát (CABP). Ezek a molekulák az aktivált enzimet gátolják.

A Rubisco oxigenáz aktivitásakor, a C-C kötés hasítása a reakció során keletkezett endoperoxi (**IV-V**) intermediernél rögtön foszfoglikolátot és Gs-3-P-ot eredményez (**3.28. ábra**).

3.6.3.3. A Rubisco aktivitását befolyásoló tényezők

A Rubisco aktivitását számos tényező befolyásolja, amelyek egyúttal az enzim szabályozásának nagyfokú komplexitását is jelzik (**3.29. ábra**).

3.6.3.3.1. Cukorfoszfátok

Ezek közül a RuBP az, amely magas koncentrációban van jelen és a szubsztrát volta mellett erősen gátolja a nem-aktivált (**E**) enzimet. A gátlás a Rubisco első két aktív helyére gyors, míg a további hat hely gátlása már csökkentett mértékű. A CABP, a CA1P, és a Xu-1,5-BP (a RuBP epimerje) a már aktivált (**ECM**) enzimet gátolja. Érdekes a CA1P, amely a Rubisco diurnális inhibitora. Megvilágításkor egy foszfatáz (karboxiarabinitol-1-foszfatáz, ami –SH enzim és fényszabályozott) aktivitásának növekedésével kb. 10 perc alatt lebomlik, míg sötétben karboxiarabinitolból (CA) újraképződik. A CA1P bekötődése a Rubisco aktív helyére olyan konformációban tartja az enzimet, amely megvédi a proteolitikus lebomlástól és ilyen értelemben ez az inhibitor molekulavédő funkciót is betölt. További inhibitor a Gs-3-P, ami negatív visszacsatoló terméke a Calvin-ciklusnak és ezt a gátlást a Rubisco-aktiváz nem oldja fel (lásd 3.6.4. fejezet). Hasonló a helyzet a Ru-5-P és a Fr-1,6-BP esetében is.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.6.3.3.2. Az aktuális CO_2/O_2 arány

Alapvető szabályozó tényező az enzim mikrokörnyezetében (lásd 3.6.3.2. fejezet).

3.6.3.3.3. Az ATP/ADP arány

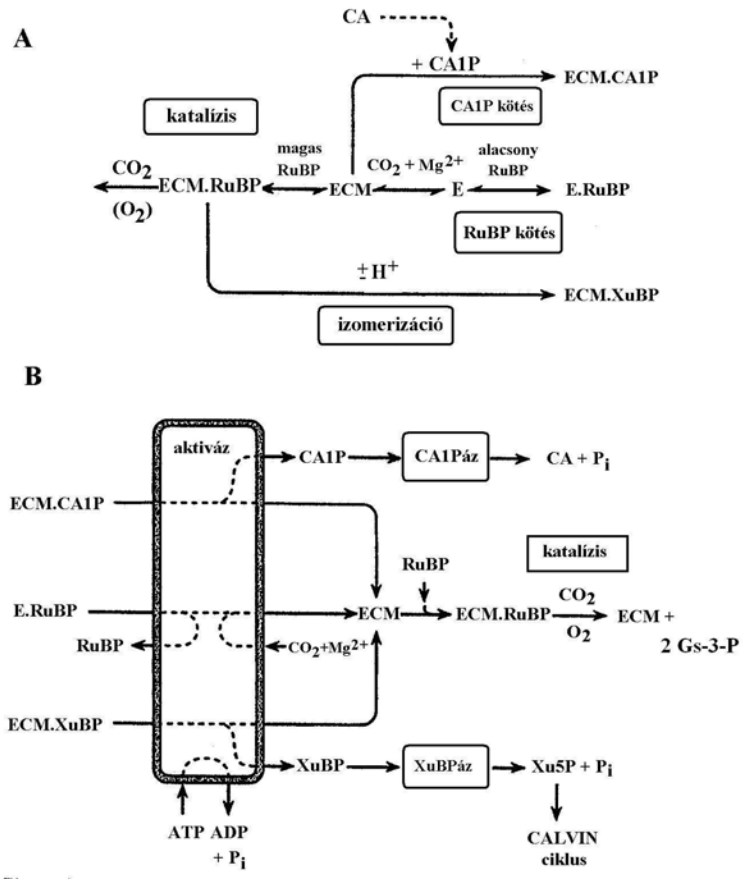
A fényreakciók során képződő ATP serkentőleg hat a CO_2 megkötésre az ATP igényes lépések miatt, továbbá (lásd 3.6.4. fejezet) a Rubisco-aktiváz működését is.

3.6.3.3.4. A pH és a Mg^{2+} ion koncentráció változása fényen

Emelkedő értékeik serkentenek. Egyes enzimeknek a pH optimuma lúgosabb közegben van, illetve a Rubisco aktiválásnak Mg^{2+} igénye van.

3.6.3.3.5. Fényszabályozás

Alapvetően a ferredoxin/tioredoxin rendszer által pozitívan (negatívan) szabályozott enzimek működésén keresztül, illetve a Rubisco-aktiváz fényregulációján keresztül valósul meg.



3.29. ábra A Rubisco működését szabályozó tényezők. A: a Rubisco aktív formájának inaktív formába történő átalakulása CA1P, RuBP és Xu-1,5-BP hatására. B: a Rubisco inaktív formájának aktív formába való átalakulása a Rubisco-aktiváz közreműködésével, valamint az inhibitor molekulák metabolizálódása. E – nem aktivált Rubisco, ECM – aktivált Rubisco

3.6.4. A Rubisco-aktiváz

A Rubisco nem aktivált alapállapotban igen alacsony affinitású a CO_2-hoz, egy magas $K_{m(CO2)}$ értékű enzim. A növekvő CO_2 koncentráció egy bizonyos mértékig növeli az aktiválás, és a reakció sebességét. Az aktiválás (lásd 3.6.3.2. fejezet) RuBP hiányában spontán végbemegy. Fiziológiás körülmények között a nem aktivált Rubisco

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

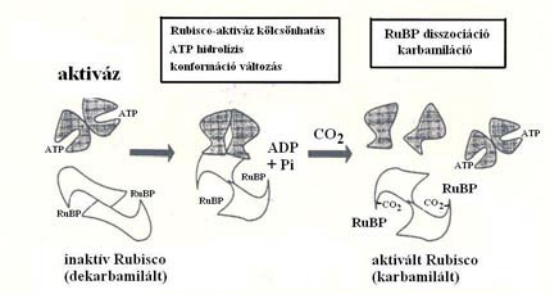
nagy hatékonysággal köti meg a RuBP-ot, ami megakadályozza az enzim aktivációját. Ugyanakkor bizonyos cukorfoszfátok igen erősen kötődnek a karbamilált (aktivált) enzimhez és így gátolják a működését (kompetitív inhibitorok, lásd 3.6.3.2. fejezet).

A CO_2 koncentráció [$K_{act(CO2)}$] általában alacsony a kloroplasztiszban és nem elégséges a Rubisco spontán aktiválásához, ill. a magas RuBP koncentráció is megakadályozza ezt a folyamatot. Ezzel szemben a CO_2-megkötés *in vivo* hatékonysága a maximális érték 70-100%-át is elérheti, telítési fényintenzitáson. Ennek hátterében egy enzim működése áll, a Rubisco-aktivázé, amely a Rubisco-t működőképes állapotban tartja. A Rubisco-aktiváz védi ki a cukorfoszfátok gátló hatását aktiválás előtt és után, valamint az alacsony CO_2-koncentráció limitáló hatását az aktiválásra.

3.6.4.1. A Rubisco-aktiváz szerkezete és működése

Az enzim (41-46 kD) magban kódolt és a prekurzor polipeptid 58 aminosavból álló tranzitpeptiddel rendelkezik és így transzportálódik a kloroplasztiszba.

Az enzim működésének lényege, hogy elősegíti a RuBP és az egyéb gátló molekulák disszociációját az aktiválatlan, illetve aktivált Rubisco-ról és ezáltal szabaddá teszik a helyet az aktiválásra, illetve az enzim reakció számára (**3.30. ábra**). A Rubisco-aktiváz működése ADP/ATP arányfüggő, a reakció ATP-igényes. Ez az egyik regulációs kapocs a CO_2-megkötés és a fényreakciók között, továbbá az enzim működése a ferredoxin-tioredoxin rendszer által is befolyásolt.



3.30. ábra A Rubisco-aktiváz működése

A Rubisco-aktiváz szubsztrátjai a Rubisco specifikus formái: RuBP-ot kötő nem-karbamilált és az aktivált, de cukorfoszfátot kötő enzim. Az enzim a működése során a kétféle pozícióban lévő cukorfoszfát-Rubisco kötődésének az erősségét csökkenti, amihez az ATP hidrolízise szükséges és ezt követően az inhibitor molekula ledisszociál. A Rubisco-aktiváz aktivitásának szabályozásában pozitív effektor a sztróma pH-jának és a Mg^{2+} -ion koncentrációjának az emelkedése is. Sötétben a Rubisco alapvetően RuBP-ot, illetve CA1P-ot köt (inaktív), míg fényen a Rubisco-aktiváz aktiválódik.

A Rubisco aktivitását bár a Rubisco-aktiváz jelentősen befolyásolja, az aktív-inaktív egyensúly kialakításában a Rubisco-ról ledisszociált cukorfoszfátok metabolizációját végző enzimek aktivitása is felelős (**3.29. ábra**).

3.6.4.2. A Rubisco katalitikus tulajdonságai és jellemzése

A Rubisco kutatásának, annak kiemelkedő jelentősége, a kétféle enzimaktivitása, a „gyenge” teljesítménye és az alacsony hatásfoka miatt, nagy figyelmet szenteltek. Óhatatlanul felmerült a kérdés, vajon javítható-e az enzim katalitikus aktivitása [$K_{cat(CO2)}$], fejleszthető-e az enzim specifitása CO_2-re vagy egyszerre mind a két paraméter, illetve kiküszöbölhető-e az enzim oxigenáz aktivitása? Természetesen felmerült az a kérdés is, hogy az evolúció során miért nem alakult ki ennek a kulcsfontosságú enzimnek egy jóval nagyobb hatékonyságú formája?

A Rubisco jellemezhető a két enzimaktivitás, a karboxiláció és az oxigenáció közötti megoszlással adott CO_2 és O_2 koncentrációnál: $\mathbf{v_{CO2}/v_{O2}= \tau\ [CO_2]/\ [O_2]}$, ahol a **τ** egy specifitási faktor, ami kifejezi az enzim kinetikai tulajdonságainak az arányát, azaz a $\mathbf{V_{CO2}K_{O2}/V_{O2}/K_{CO2}}$-t, ahol A **K** a Michaelis konstans CO_2-ra és O_2-re, míg a **V** a két folyamat maximális sebessége. A **τ** specifitási faktor mutatja a Rubisco két kompetícióban lévő szubsztrátja közötti megoszlást. A magasabb **τ** érték jelzi a magasabb specifitást CO_2-ra.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Az evolúció során a **τ** értéke fokozatosan javult. Fotoszintetizáló baktériumoknál 10-15, cianobaktériumoknál 50, zöld algáknál 60 és a magasabb rendűeknél 80 körüli érték.

Számos kísérlet történt a Rubisco enzimatikus tulajdonságainak javítására: random és irányított mutagenezis („random and directed side-chain mutagenesis"), oldalláncok kémiai módosítása, elsősorban az aktív helyen, ill. környékén, valamint az alegységek hibridizációja, z aktiválási folyamat során a fémion helyettesítése (Mg^{2+} helyett Mn^{2+}, Fe^{2+}, Ca^{2+}, Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}), és a hőmérsékletváltoztatás.

Általában elmondható, hogy minden ilyen irányú beavatkozás szignifikánsan csökkentette az enzim specifitását. Hasonló negatív hatással járt az L és az S alegységek közötti kapcsolatokban résztvevő oldalláncok módosítása is.

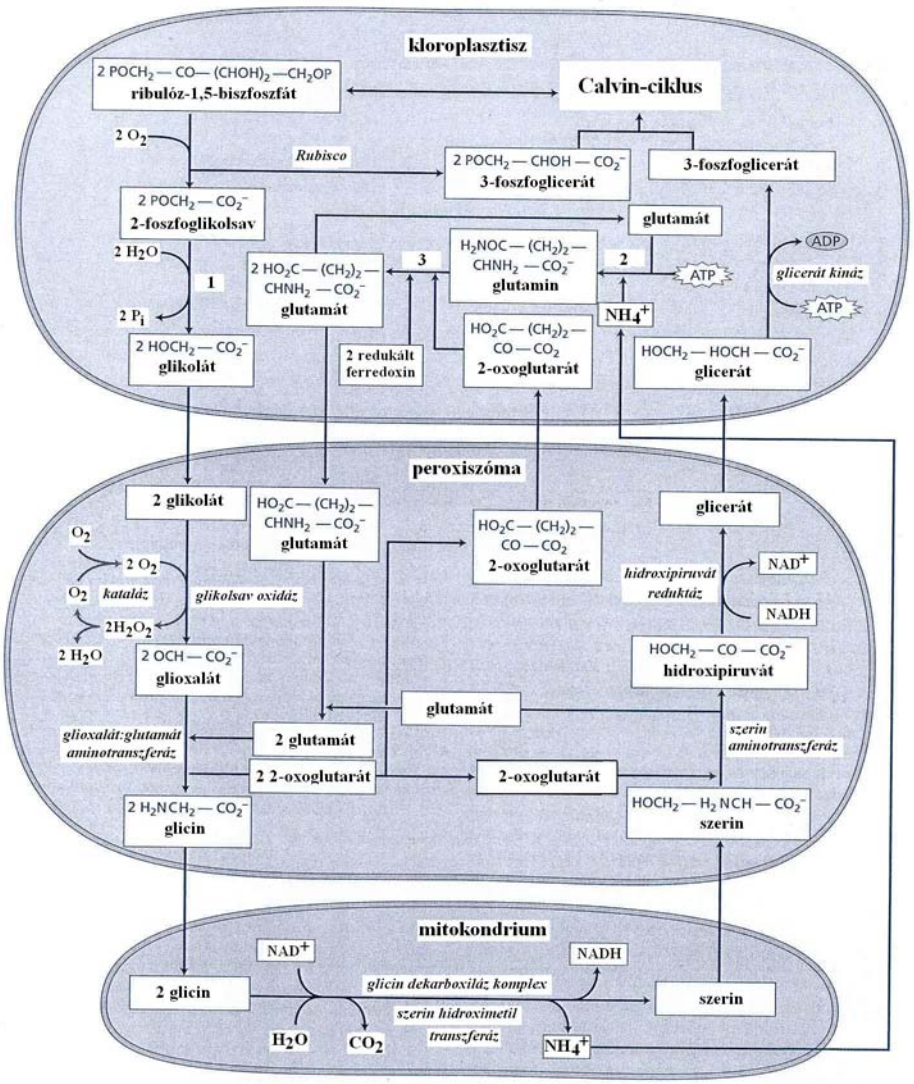
A fent említett beavatkozások nem jártak kecsegtető sikerrel, ami értelmezhető úgy is, hogy ha az evolúció során lett volna lehetőség egy fejlett, hatékonyan működő Rubisco szelekciójára, az meg is történt volna. Azaz a Rubisco kettős enzimaktivitása az enzim immanens sajátsága, nem küszöbölhető ki.

3.6.5. A fénylégzés

A Calvin-ciklus kulcsenzime, a Rubisco, a karboxiláz aktivitása mellett oxigenázként is működhet, amelynek következménye egy C_2-es anyagcsere út, a fénylégzés (fotorespiráció) beindulása, amely folyamat befolyásolja a fotoszintetikus produkciót.

A fénylégzés folyamatában három sejtorganellum: a kloroplasztisz, a peroxiszóma és a mitokondrium vesz részt **(3.31. ábra)**. A reakciósor folyamán több ponton O_2 használódik föl (Rubisco oxigenáció, glikolsav→glioxálsav átalakulás, glicin→szerin átalakulás) és CO_2, valamint NH_4^+ szabadul föl. A folyamat ilyen formán egy légzési láncnak is felfogható.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.31. ábra A fénylégzés folyamatai és azok kompartmentizációja

A fénylégzést a magas hőmérséklet fokozza, mert a CO_2 diffúziója gyorsabb a kloroplasztiszból, mint az O_2 diffúziója és ezért a CO_2/O_2 arány romlik, ami nem kedvez a karboxilációnak. Az emelkedő hőmérséklet hatására, a vízvesztés elkerülésére sztómazáródás következhet be, ami az intercellulárisok CO_2 koncentrációjának csökkenését okozza. Továbbá növeli a fénylégzés növekedését a magas fényintenzitás is, mivel a fotoszintetikus elektrontranszportlánc működése gyorsul és a melléktermék, az oxigén koncentrációja nő, tovább rontva a CO_2/O_2 arányt, ezáltal a karboxiláció esélyét.

A fénylégzés során szabaddá váló CO_2 értelemszerűen a már korábban asszimilált szén elvesztését jelenti. Így a fénylégzés csökkenti a nettó fotoszintetikus produkciót. Ez a veszteség a fénylégzésnek kedvező körülmények között akár az 50%-ot is elérheti. Emellett a fénylégzésnek bizonyos szabályozó szerep is tulajdonítható, miszerint a fényreakciók túlműködése során képződött primer fotoszintetikus termékek (ATP, NADPH) fölöslege ezen az úton „csorog” el.

A növényvilág evolúciója során a földi légkör átalakulásával nőtt az O_2 és ha nem is egyenletesen, de csökkent a CO_2 mennyisége. Ezek a változások, a Rubisco karboxiláz funkciójának „gyengeségét” is ismerve, szelekciós nyomást gyakorolt a C_3-as növények CO_2-megkötési folyamatára. A fénylégzést támogató tényezők erősödése többféle, a fénylégzés kivédését szolgáló mechanizmus kifejlesztését váltotta ki:

- Kézenfekvőnek tűnt ilyen körülmények között a Rubisco karboxiláz aktivitásának, enzimkinetikai paramétereinek fejlődése, javulása (CO_2-affinitás, specifitás). Bár ilyen tendenciák megfigyelhetők a különböző evolúciós fejlettségű

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

növénycsoportok összehasonlításakor, de olyan végső megoldás, mint az oxigenáz aktivitás eliminálása, nem következett be.

Már az evolúció korai szakaszában megjelentek olyan szén-dioxid koncentráló mechanizmusok (CCMs - **C**O_2**C**oncentrating **M**echanisms), amelyek közreműködésével kedvezőbb feltételeket, magasabb CO_2 szintet lehetett teremteni a Rubisco környezetében. Ezek a mechanizmusok különféle változatokban mindmáig fennmaradtak és a folyamatokat alapvetően a szénsav-anhidráz enzimek (**c**arbonic **a**nhydrase - **CA**) vezénylik.

Későbbi időperiódusban, a különböző szelekciós nyomást kifejtő tényezők eltérő kombinációjának eredményeképpen genetikai és ennek megfelelő metabolikus módosításokkal olyan adaptációs mechanizmusok fejlődtek ki és rögzültek, amelyek a már meglévő C_3-as út elé épülve, CO_2-gyüjtő antennaként működve biztosították a Rubisco számára az optimális körülményeket, azaz a magas CO_2 koncentrációt. Ezek a mechanizmusok az időben előbb kialakult CAM (**C**rassulaceae **A**cid **M**etabolism), majd a C_4-es út voltak (lásd 3.6.7. és 3.6.8. fejezetek).

3.6.6. Szén-dioxid koncentráló mechanizmusok

3.6.6.1. Szénsav-anhidrázok - CA

A Rubisco működése szempontjából lényeges az aktuális CO_2/O_2 arány és mivel az enzim eléggé gyenge hatékonysággal dolgozik (kis CO_2 affinitás, fotorespiráció), a cianobaktériumok, a legtöbb alga, sok vízinövény és általában a magasabb rendű növények, hogy kompenzálják ezt a körülményt, CO_2 koncentráló mechanizmust fejlesztettek ki. Ennek célja, hogy megnövelje az aktuális CO_2 szintet a Rubisco környezetében. Ezek a mechanizmusok a CO_2/HCO_3^- felvételét, transzportját és a szükségletnek megfelelő oda-vissza átalakítását, reverzibilis hidratációját ($CO_2 \Leftrightarrow HCO_3^-$) végző folyamatok, amelyeket a CA-ok mozgatnak.

Az élő szervezetekben három, evolúciósan független CA csoportot lehet megkülönböztetni: az α-, a β- és a γ-CA-ok. Jóllehet ugyanazt a reakciót katalizálják, szekvencia homológiát nem mutatnak. Különböző időben fejlődtek ki és jó példái a konvergens evolúciónak. Az állati szervezetekben csak az α-CA izoformjai, míg a cianobaktériumokban, az algákban és a magasabb rendű növényekben mind a három típus előfordul.

A CA-ok Zn^{2+} tartalmú enzimek és mindegyik típusuk hasonló katalikus aktivitással rendelkezik. Fontos szerepük van mind a fotoszintetikus, mind a légzési folyamatokban, részt vesznek a C aktív transzportjával a karboxilációs lépések támogatásában, illetve a légzési CO_2 elszállításában.

3.6.6.2. A szénsav-anhidrázok lokalizációja

A CA-ok mindenhol megtalálhatóak a fotoszintetizáló szervezetekben és azon belül szinte minden kompartmentben. A CA elhelyezkedése szoros összefüggésben van a szervezet/sejt fiziológiai különbözőségeivel és az egyes CA típusok aktivitásai között is nagy eltérések lehetnek.

A cianobaktériumokban CO_2-ra nincsen transzporter, ezért csak a diffúzió jöhet számításba. Ugyanakkor a HCO_3^- transzporterekkel háromszor nagyobb CO_2 koncentráció érhető el a külső környezethez képest. Ez $CO_2 \rightarrow HCO_3^-$ átalakulás a karboxiszómákban történik, ami egy proteinréteggel körülvett struktúra és benne található a Rubisco. A felvett HCO_3^- a karboxiszómákba diffundál, ahol a β-CA aktivitás biztosítja a magas CO_2 koncentrációt a Rubisco számára.

Algáknál a transzport a periplazmatikus téren, a plazmamembránon, illetve a kloroplasztisz borítómembráján keresztül mehet végbe. A C-forrás egyes csoportoknál CO_2, ill. HCO_3^-. Az egyes kompartmentek HCO_3^-, illetve CO_2 koncentrációját a CA biztosítja, pl. pirenoidok (egy a karboxiszómákkal analóg kompartment), ahol a kloroplasztisz sztrómájában a legtöbb CA és az összes Rubisco található.

A magasabb rendű C_3-as növények legjelentősebb CA-ja a mezofill sejtek kloroplasztiszainak sztrómájában található. A CA-ok alapvetően két funkciót teljesítenek. Egyrészt biztosítják a lúgos sztrómában a magas CO_2 koncentrációt és minimalizálják a CO_2 koncentráció grádienst a kloroplasztisz borítómembrán és a Rubisco aktív helye között, másrészt kialakul egy speciális asszociáció a CA és a Rubisco között, hasonló, mint ami a karboxiszómában már előfordult. A C_4-es növényeknél a mezofill sejtekben lévő citoplazmatikus CA-nak van jelentősége a $CO_2 \rightarrow HCO_3^-$ átalakulásban. A HP sejtekben a szerepe elenyésző. A CAM növényeknél a sajátos, egy sejtben megvalósuló, de időben szétváló C_3-as és C_4-es CO_2 megkötés sajátos kompartmentizációt igényel.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A citoplazmatikus CA éjszaka működik, míg a kloroplasztiszban lévő CA nappal, bár ennek a szerepe szinte elhanyagolható.

3.6.7. A CO_2-megkötés C_4-es útja

3.6.7.1. A C_4-es fotoszintézis megjelenése

A C_4-es CO_2-megkötés útját az 1960-as években fedezték fel. Ez a folyamat evolúciósan viszonylag új keletű. Az oxigént termelő fotoszintézis megjelenése kb. 3 milliárd évre tehető. Hosszú, vízben fejlődő élet után kb. 450-400 millió évvel ezelőtt jelentek meg a szilurban a szárazföldi szervezetek. A kréta időszakra tehető (140-65 millió év) a zárvatermők evolúciójának kezdete. 85-65 millió évvel ezelőtt, a késő kréta időszakban jelentősen csökkent a légkör CO_2 tartalma és ekkor kezdődhetett el a C_4-esek evolúciója több ágon. A C_4-es út csak a zárvatermők között fordul elő. A C_4-es ökoszisztémák elterjedése mind az Ó-, mind az Újvilágban 5-7 millió évvel ezelőttre tehető (késő miocén). Ha az oxigénes fotoszintézis evolúciós idejét 24 órának vesszük, akkor a C_4-es út az utolsó óra második felében fejlődött ki. A szilurban emelkedett az O_2 koncentráció a mai szintre, de ekkor ez még nem jelentett evolúciós nyomást a magas CO_2 koncentráció miatt. A kréta időszak közepére csökkent le a CO_2 koncentrációja a mai szintre és a pleisztocén alatt még valamivel alacsonyabb is volt. Jóllehet a CO_2 koncentráció csökkenése még nem lett volna egyedüli oka a C_4 megjelenésének, hiszen a növények többsége maradt C_3-as. A további főbb okok a jobb víz- és nitrogénhasznosítás elérése, a Rubisco alacsony CO_2 affinitásának ellensúlyozása, az oxigenáz aktivitásának visszaszorítása, az időnkénti sóstressz, valamint egyes klimatikus tényezőkkel (magas hőmérséklet, magas fényintenzitás) szembeni védekezés lehettek. Ezen tényezők okozta szelekciós nyomás különböző mértékű erőssége és kombinációja vezetett a polifiletikus C_4 evolúcióhoz, kb. 40-féle úton.

A C_3-C_4-intermedierek felfedezése megerősítette a $C_3 \rightarrow C_4$ lépcsőzetes evolúcióját. Ebből a szempontból leginkább vizsgált nemzetségek a *Flaveria*, a *Mollugo*, a *Moricandia* és a *Panicum* különböző fajai. Ezek korlátozott C_4-es úttal rendelkeznek. Máshol a C_3 és a C_4 egymás mellett létezik egy nemzetségben (*Atriplex*).

A C_4-es út a zárvatermők 450 családja közül csak 17-ben és egy vízinövény családban, a Hydrocharitaceae-ben fordul elő. Az egyszikűeknél a Poaceae családban van a legtöbb C_4-es, kb. 5000 faj, majd őket a Cyperaceae család követi. A kétszikűeknél a Chenopodiaceae család adja a legtöbb C_4-est. Egyébként az összes zárvatermő faj csupán 3%-a C_4-es. A C_4-es növények inkább lágyszárúak vagy bokorszerűek. A fa termetű növények szinte kizárólag C_3-ok.

A C_4-esek földrajzi eloszlása: a csökkenő szélességgel nő a C_4-ek száma. 30^o-kal északra, illetve délre az Egyenlítőtől dominálnak a fűféle C_4-ek. A C_4-es részvétel a Föld globális szerves anyag produkciójában az alacsony fajszám ellenére is kb. 20-30%.

3.6.7.2. A C_4-es út főbb jellegzetességei

A C_4-es út lényegében egy igen hatékony, primer CO_2-megkötési mechanizmus, amely a C_3-as út elé épülve, „CO_2-gyüjtő antennaként” működve, elégségesen magas CO_2 koncentrációt biztosít a Calvin-ciklus Rubisco-ja számára.

Főbb vonásai:

- a jellegzetes levélanatómia (Kranz-anatómia), ahol a levélben két fotoszintetizáló sejttípus van. A levél fő tömegét alkotó mezofill (M) sejtek, és az edénynyalábok körül elhelyezkedő hüvelyparenchima (HP) sejtek. A Kranz-levélanatómia megléte hosszú időn keresztül úgy tűnt, hogy a C_4-es CO_2-megkötés obligát feltétele.

- az egymásra épülő két CO_2-megkötési lépés, amely térben különül el. A CO_2 primer fixációját a foszfoenolpiroszőlősav karboxiláz (PEPC) végzi és a folyamat termékei 4-szénatomos szerves savak, amelyek a HP sejtekbe transzportálódnak a mezofill és a hüvelyparenchima sejtek között lévő gazdag plazmodezmás kapcsolatokon keresztül. A dekarboxilálásuk során felszabaduló CO_2 véglegesen itt fixálódik a Rubisco közreműködésével, a C_3-as úton.

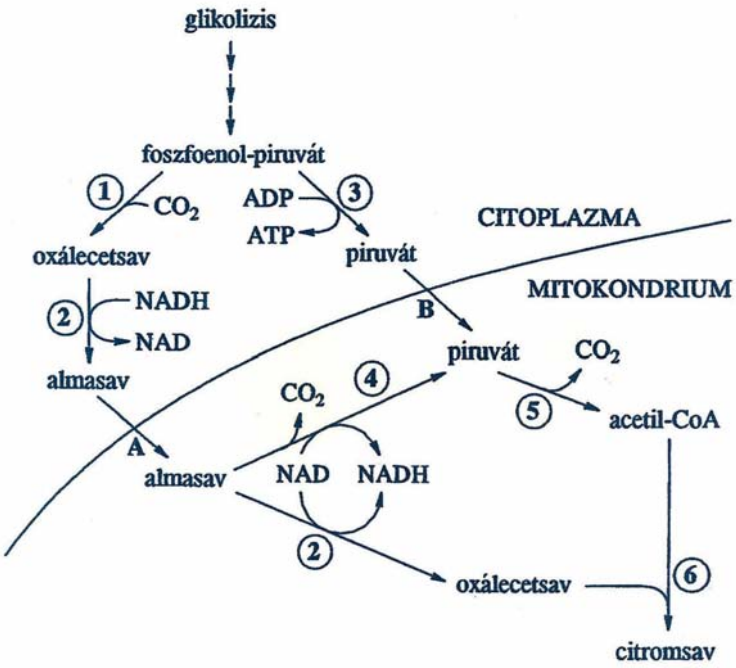
- ennek megfelelően a génexpresszió kompartmentizációja, miszerint a PEPC és a hozzá kapcsolódó biokémiai mechanizmus enzimjei a mezofill sejtekben, a dekarboxiláció és a C_3-as CO_2-megkötés enzimjei a hüvelyparenchima sejtekben lokalizáltak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.6.7.3. A C_4-es út biokémiája

A folyamat fő lépései: A PEPC felelős a mezofill sejt citoplazmájában a CO_2 primer megkötéséért. A reakció szubsztrátja azonban nem CO_2, hanem bikarbonát (HCO_3^-). A CO_2 hidratációjáért a szénsav-anhidrázok felelnek. A megkötés igen hatékony, irreverzibilis lépés, Mg^{2+}-ot igénylő és az enzim nem érzékeny az oxigénre. A PEPC a Rubisco-val összehasonlítva monofunkciós, alacsony K_m értékű enzim. A „CO_2"-akceptor a foszfoenolpiroszőlősav (PEP), ami piroszőlősavból képződik a piroszőlősav-ortofoszfátdikináz (PPDK) enzimmel. A képződött primer termék az oxálecetsav, amely NADP-almasav dehidrogenázzal almasavvá, és/vagy aszparagin-aminotranszferázzal (AST) aszparaginsavvá alakul át a kloroplasztiszban (**3.33. és 3.34.ábra**). Az almasav és az aszparaginsav hatékonyan transzportálódik a HP sejtbe, ahol NADP-, NAD-almasav enzimmel, illetve PEP-karboxikinázzal (PEP-CK) CO_2 válik szabaddá, amely CO_2-ban gazdag környezetet teremt a Rubisco számára és reasszimilálódik a Calvin-cikluson keresztül (**3.35. ábra**). A CO_2/O_2 arány ilyen megnövelése jelentős mértékben lecsökkenti, illetve kiküszöböli a fotorespirációt, jóllehet annak enzimkészlete jelen van a HP sejtben.

A C_4-es növényekben szereplő enzimek a C_3-ban is működnek csak más metabolikus szereppel és aktivitással. Különbségek vannak az enzimek kinetikai sajátosságaiban és a sejten belüli kompartmentizációjukban. Például a PEP-CK a sejtek citoplazmájában egy „sönt" reakciósor tagja, amely szénvázat juttat be kerülő úton a mitokondriumba (**3.32 ábra**), vagy, ahogy a CA a C_3-ban a kloroplasztiszban van és a CO_2-nak a sztrómán keresztüli diffúzióját facilitálja (könnyíti meg). A C_4-ben a mezofill sejt citoplazmájában lokalizált és a $CO_2 \rightarrow HCO_3^-$ átalakulást katalizálja.



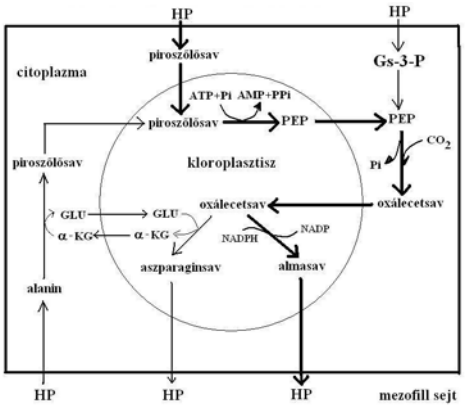
3.32. ábra A PEP-karboxiláz eredeti funkciója a szénhidrátanyagcserében.(A – almasav transzporter; B – piruvát transzporter; 1 – PEP-karboxiláz; 2 – NAD-almasav dehidrogenáz; 3 – piruvát kináz; 4 – NAD-almasav enzim; 5 – piruvát dehidrogenáz; 6 – citrát szintetáz

A gének polifiletikus eredete azt sugallja, hogy a C_4-es gének ősi C_3-as génekből származnak (pl. PEPC, PPDK, CA). Az ősi típusú C_4-es gének expressziója alacsony szintű a C_3-ban, de kimutatható, azaz a C_4-es szindróma a meglévő gének expressziójának a megváltozást jelentette, ami az anyagcsere átszerveződésével járt együtt.

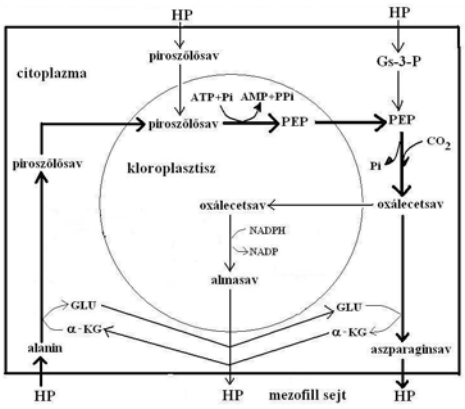
3.6.7.3.1. A C_4 kategorizálása

A mezofill sejtnek két típusa ismert a PEPC-karboxiláció primer terméke szerint: az almasav (**3.33. ábra**) és az aszparaginsav típus (**3.34. ábra**). A fő út mellett azonban mindig megtalálható a másik is, csak jóval kisebb intenzitással működik.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.33. ábra A C_4-es CO_2 megkötés almasav-típusa a mezofill sejtben



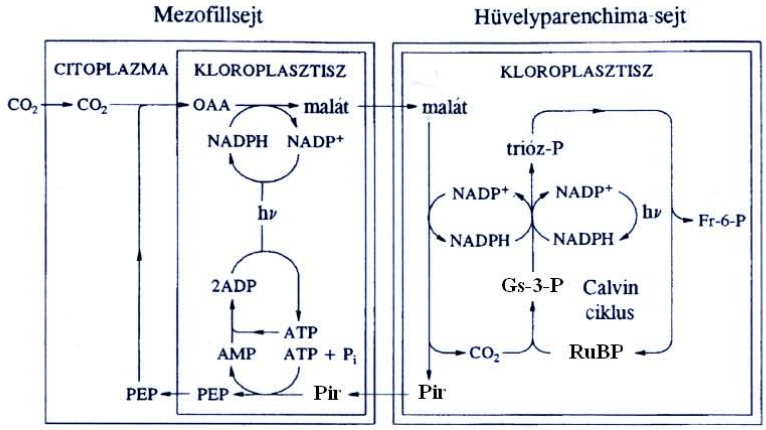
3.34. ábra A C_4-es CO_2 megkötés aszparaginsav-típusa a mezofill sejtben

A hüvelyparenchima sejtben lezajló dekarboxiláció típusa szerint (**3.35.ábra**):

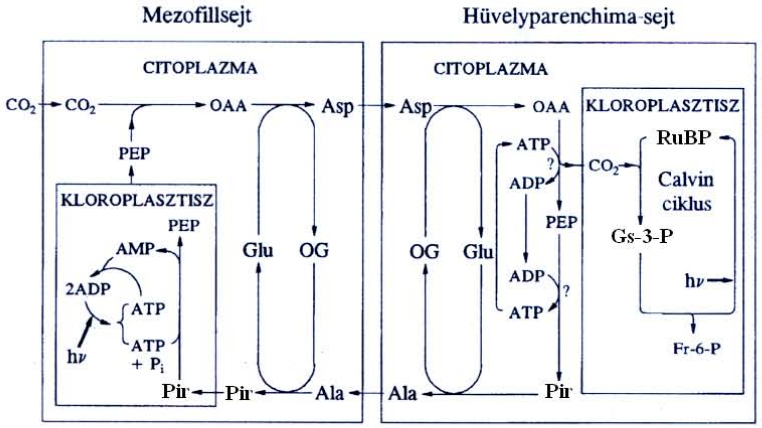
- NADP-almasav enzim (NADP-ME) – a HP sejt kloroplasztiszában
- NAD-almasav enzim (NAD-ME) – a HP sejt mitokondriumában
- PEP-karboxikináz (PEP-CK) – ez az előbbiből fejlődhetett ki és csak a Poaceae

családnál fordul elő – a HP sejt citoplazmájában

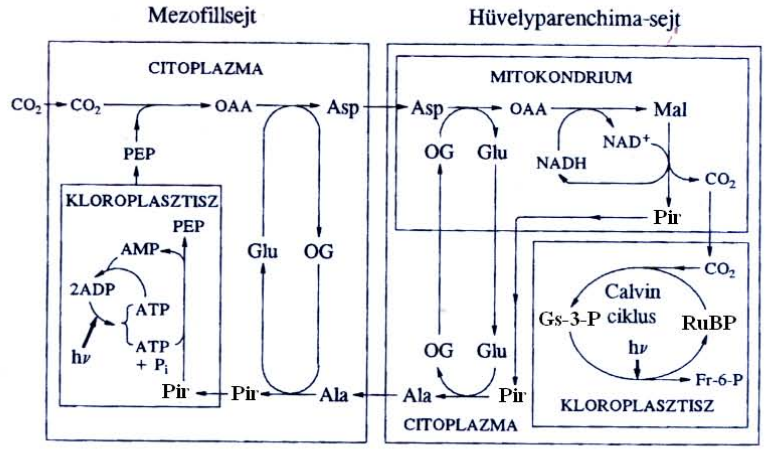
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



NADP-almasav-enzim (NADP-ME) típus



Foszfoenol-piruvát-karboxikináz (PEP-CK) típus



NAD-almasav-enzim (NAD-ME) típus

3.35. ábra A hüvelyparenchima sejtben lezajló dekarboxiláció típusai

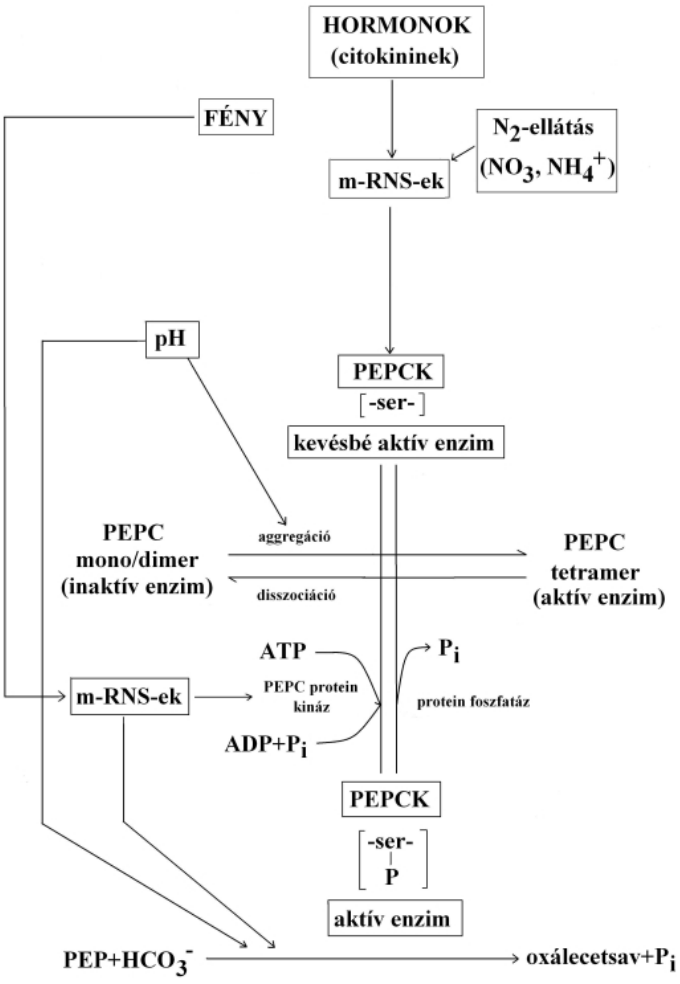
A PEPC a mezofill sejt citoplazmájában, a Rubisco a hüvelyparenchima sejt kloroplasztiszában, a piruvát-ortofoszfodikináz (PPDK) a mezofill kloroplasztiszban lokalizált. A PEP regenerálása során képződött AMP ATP-á való újrafoszforilálása 2 ATP-t igényel, ami miatt a C_4-es CO_2-megkötés energiaigénye magasabb (5 ATP, 2 NADPH).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Igen sokféle Kranz-anatómia fordul elő a sejttípusok egymáshoz viszonyított elhelyezkedése, a kloroplasztiszok ultrastruktúrája szerint. Például a NADP-ME típusnál az M sejtben jól fejlett gránum van, a HP sejt gránum-hiányos és dominál az almasav-út. A NAD-ME és a PEP-CK típusnál általában van gránum mind a kétféle típusú kloroplasztiszban és az aszparaginsav a fő primer termék. Több átmeneti C_4-es típusnál Krantz-levélanatómia nem figyelhető meg.

3.6.7.4. A C_4 szabályozása

A C_4-es gének szabályozásában jelentős szerepe van a fénynek, ami összehangolást jelent a fotoszintézis fényreakciói és a CO_2-megkötés folyamata között. A C_4-esek PEPC-ának fényregulációja foszforilációs mechanizmus (kináz/foszfatáz rendszer) segítségével történik. A másik a monomer-dimer-tetramer átalakulás. A savas pH, a magas hőmérséklet és a sóstressz a dimerré disszociálást (inaktiválódás) serkenti, míg pl. a pH 8 körüli érték a tetramerré való szerveződést segíti elő. Számos szignál is szerepel a C_4-út szabályozásában. Ilyen pl. a gyökér sejtek által felvett nitrogén, amely a citokininek szintézisét serkenti. Ezek a levélbe transzlokálóva C_4-es gének aktiválódását idézik elő (**3.36. ábra**). A PPDK szintén tetramer szerkezetű és foszforilációs szabályozás alatt áll. Fényaktivált a NADP-almasav dehidrogenáz enzim is a NADP-ME típusnál, amikor az oxálecetsav redukciója történik almasavvá. Az enzim sötétben inaktív állapotban van (oxidált állapot) és fényen aktiválódik (redukált állapot) a ferredoxin-tioredoxin rendszeren keresztül.

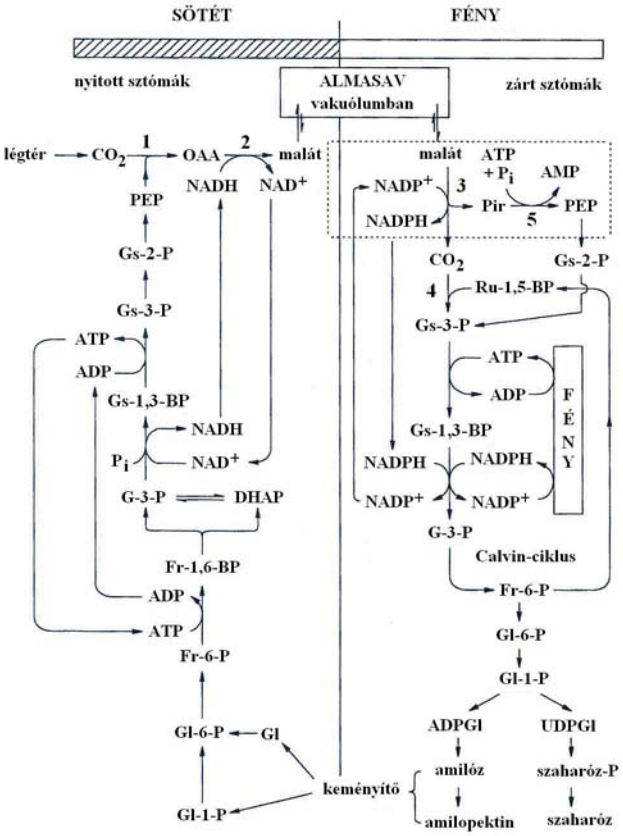


3.36. ábra A PEP-karboxiláz szabályozási folyamatának komponensei

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.6.8. A CAM-típusú CO_2-megkötés (Crassulaceae Acid Metabolism)

A CAM típusú növények különböző, de alapvetően szélsőséges klimatikus viszonyokhoz plasztikusan alkalmazkodó CO_2-koncentráló mechanizmust fejlesztettek ki. Ilyen növények arid, sivatagi, tartósan vízhiányos környezetben, félszáraz, évszakos vízellátású szubtrópusi klímán, vagy fluktuáló vízellátású trópusi környezetben (epifiton) fordulnak elő. Ezekben a növényekben egy sejttípusban történik a CO_2 megkötése, de időben különül el a C_4-es és a C_3-as fixáció. Ezt a mechanizmust a Crassulaceae család egyes fajaiban figyelték meg először. Itt is a primer karboxiláló enzim a PEPC és az elsődleges termék általában az almasav, ami aztán vakuólumban halmozódik fel és tárolódik. A primer CO_2-akceptor a CAM növényekben is PEP, amit keményítő lebontása után, a glikolízis hoz létre. Erre éjszaka van lehetőség, amikor a sztómák általában nyitva vannak és mód nyílik a CO_2 felvételére. Nappal, zárt sztómák mellett, a fotoszintézis fényszakaszának működésével megteremtett feltételek mellett (ATP, NADPH), az almasav NADP-almasav-enzim, NADP-almasav-enzim (ME-CAM), vagy PEP-karboxikináz (PEPCK-CAM) közreműködésével dekarboxilálódik. Így jelentős CO_2-koncentráció érhető el a kloroplasztiszban, ahol a CO_2 a Calvin-ciklusban refixálódik. A képződött piruvát a kloroplasztiszban piruvátfoszfodikináz (PPDK) segítségével PEP-vá alakul, kijutva a citoplazmába Gs-2-P-ot, majd Gs-3-P-ot képez. Ez visszajutva a kloroplasztiszba G-3-P-on keresztül Gl-1-P-tá alakul (glukoneogenezis), majd polimer termékekké épül (keményítő, glukán, oldható hexozók) (**3.37. ábra**). Jóllehet a fotorespiráció enzimkészlete megtalálható, a fotorespiráció elhanyagolható mértékű, vagy nem kimutatható.



3.37. ábra A CAM-típusú CO_2-megkötés vázlatos folyamata. Az ábra az almasav fényen történő szénhidráttá alakulását mutatja be NADP-ME típusú CAM növényekben. Gl – glukóz, OAA – oxálecetsav, Pir – piruvát

3.6.8.1. A CAM-típusú CO_2-megkötés fázisai:

A CAM-típusú CO2-megkötés fázisai (**3.38. ábra**):

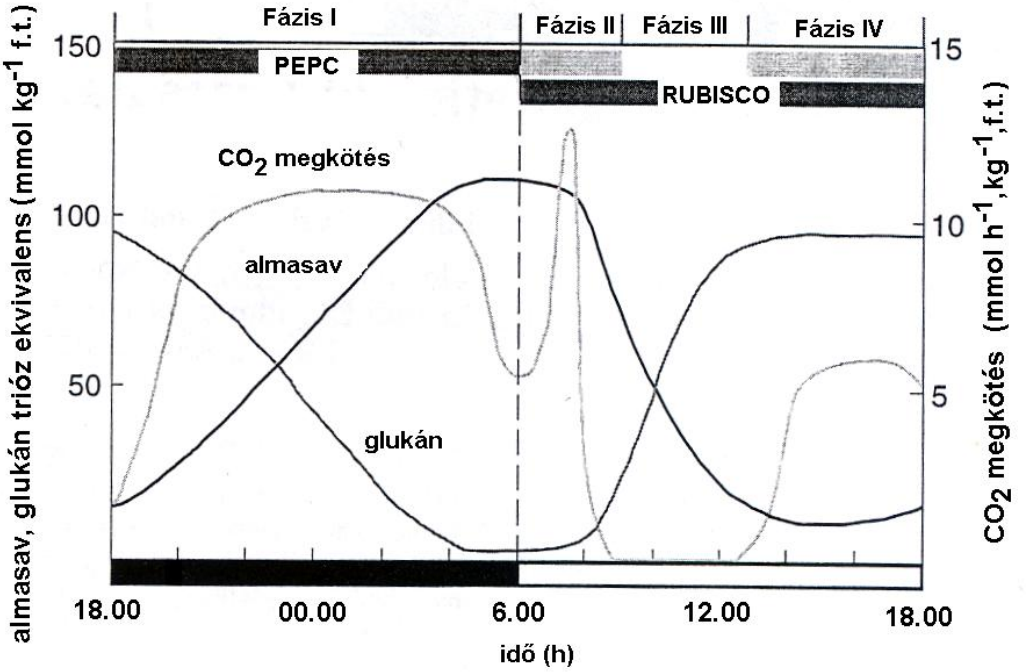
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

I Fázis: éjszakai PEPC katalizált CO_2-beépülés, almasav transzport a vakuólumba – közben raktározott szénhidrát mobilizálása. A CO_2-beépülés a fázis végére csökken, az almasav mennyisége nő, ami gátolja a PEPC aktivitást,

II Fázis: a megvilágítás kezdetén a C_4 átmegy C_3-ba, a sztómák záródnak,

III Fázis: az almasav dekarboxileződik, az almasav mennyisége csökken, a CO_2-koncentráció csökken, kedvező körülmények esetén a sztómák kinyitnak, CO_2-felvétel

IV Fázis: a fázis kezdetén az exogén CO_2 a C_3-as úton hasznosul, a fázis végén a PEPC aktiválódik és a Rubisco leáll.



3.38. ábra A CAM fázisokban a CO_2-fixáció, az almasav koncentráció és a glukántartalom alakulása

A teljesen, vagy részlegesen vízhiányos körülmények között élő CAM növények a vízvesztés elkerülésére több stratégiát is kiépítettek, mint pl. a vastag kutikula, a csökkent felület/térfogat arány, a nagy, vékonyfalú sejtek, amelyekben a vakuólumok nagy víztároló kapacitással rendelkeznek, a csökkent sztómaméret- és szám, a víztartó szövetek megléte, az alacsony gyökér/hajtás arány a talajban való vízvesztés elkerülésére. A CAM növények vízhasznosítása így hétszer jobb, mint a többi növényé.

A CAM növények sajátos anatómiai felépítéssel rendelkeznek a levél szerkezetét tekintve. A levél több rétegből épül fel: a felső epidermisz, a középső egy vagy két rétegű paliszád mezofillum, az alsó szivacsos mezofillum és az alsó epidermisz. A CAM enzimek expressziója és aktivitása elsősorban a szivacsos mezofillumban mutatható ki, míg a C_3-asszociált enzimek főként a paliszád mezofillumban vannak. A szivacsos mezofillumban a PSI/PSII arány magasabb, ami a C_4-es metabolizmus nagyobb ATP igényét hivatott kielégíteni.

A CAM elég elterjedt, az edényes növények kb. 7%-át teszik ki, többen vannak fajszám tekintetében, mint a C_4-esek. A CAM 33 növénycsaládban és ezen belül 328 nemzetségben fordul elő, a kétszikűekben és az egyszikűekben egyaránt. Az evolúciójuk függetlenül zajlott le az egyes taxonokban és igen diverz. Vannak köztük gazdaságilag fontos növények is, mint az ananász (*Ananas comosus*), az agávé (*Agave* sp.), továbbá kaktuszok (Cactaceae), orchideák (Orchidaceae) és más epifitonok. A CAM előfordul vízi növényekben is, ahol a vizek CO_2 koncentrációja alacsony. Ez azt is jelzi, hogy a vízhiány nem egyedüli kiváltó oka, evolúciós szelekciós tényezője volt a CAM kialakulásának. A CAM növényekben ez a CO_2-megkötési megoldás igen plasztikus, amit a környezeti tényezők tág határok között befolyásolnak. A CAM így nagyon különböző típusokat mutat.

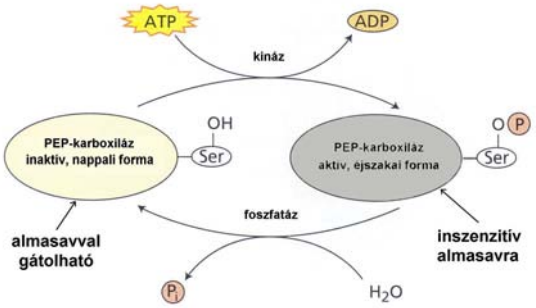
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.6.8.2. A CAM enzimek és szabályozásuk

A CAM és a C_4 metabolizmusokhoz az enzimatikus apparátus minden magasabb rendű növényben meg van. Ezekben a növényekben azonban a kulcsenzimek (PEPC, PPDK, NAD(P)-ME) aktivitása jóval magasabb, és ugyanakkor más lehet az intracelluláris kompartmentizációjuk is.

A CAM-specifikus izoenzimek közös ősből eredtek, melyet követően előfordult génduplikáció, a promoter régiók módosulása, illetve a fehérjék aminosav sorrendjének megváltozása, ami az enzimek kinetikai és regulációs sajátosságait megváltoztatta. A CAM növényekben kifejlődött a megfelelő gének expressziójának és a regulációs mechanizmusoknak a diurnális ritmusa, amellyel egyben alkalmazkodtak ahhoz a megnövekedett C-fluxushoz, ami a glikolízis és a glukoneogenezis folyamatain keresztül áramlik, hogy kielégítse a fokozott igényt a PEP-re, ami az éjszakai intenzív CO_2-megkötéshez szükséges.

A legalaposabban tanulmányozott enzim a PEPC, amely regulációja egy PEPC- kináz közreműködésével történik (a PEPC foszforilációs szabályozása ellentétes a C_3-nál tapasztaltakéhoz). Sajátos szabályozási pont a PEPC érzékenységének változása az almasav allosztérikus gátlására (**3.39. ábra**).



3.39. ábra A PEP-karboxiláz szabályozása CAM-típusú növényekben

Érdekes a citoplazmatikus almasav koncentrációjának szabályozása is. Az almasavat éjjel vakuólumba kell zárni, hogy a citoplazma pH-ját ne vigye el savas irányba és ne gátolja a PEPC-t. Az almasav transzportot a tonoplaszt-membránon keresztül, egy a membrán belső felületén fenntartott pozitív elektrokémiai potenciál hajtja, amelyet H^+-ATP-áz és H^+-anorganikus-ortofoszfatáz állít elő. Az almasav a membránon keresztül, mint egy kétértékű anion halad át ioncsatornán keresztül, vagy az almasav transzporterek segítségével, majd bent protonálódik. Éjjel, befelé aktív sav transzport van, míg nappal kifelé, más csatornán át, vagy passzív diffúzióval történik az almasav kijutása.

3.6.9. C_4-es út egy sejtben

A C_4-es út esetében, a két CO_2-megkötési mechanizmusnak térbeli szétválasztása két sejttípusba hosszú ideig obligát feltételnek látszott a megvalósításhoz. Ez a feltétel azonban nem érvényesül néhány növényben, ahol a C_4-es fotoszintézis egy sejten belül történik. Ez a jelenség két növényben fordul elő az eddigi ismeretek szerint: a *Borszczowia aralocaspicá*-ban és a *Binertia cycloptera*-ban, amelyek a Chenopodiaceae családba tartoznak. A *Borszczowia* Közép-Ázsiában él, a Kaspi-fennsík észak-keleti területeitől Mongóliáig és Észak-Kínáig, míg a *Binertia* Kelet-Anatóliától kelet felé Türkmenisztán és Pakisztán felé fordul elő.

A két növény klorenchima sejtjeiben az enzimek és a sejtorganellumok intracellulárisan oszlanak meg két sejtkompartmentbe és így ez a megoszlás igen sajátos. A *Borszczowia* levélsejtek proximális részén sűrű kloroplasztisz réteg, ami analóg a HP sejt kloroplasztiszaival, míg a sejt disztális vége körül található kloroplasztiszok a M sejt kloroplasztiszaival analóg. A CO_2 a sejt disztális végén lép be. Itt történik meg a CO_2 megkötése PEPC-zal. A C_4-es savak a sejt proximális végébe diffundálnak át a sejt közepén lévő vékony citoplazmatikus térrészen, ahol nincsenek sejtorganellumok. A C_4-es savak a sejt proximális végén dekarboxileződnek NAD-ME-el a mitokondriumokban. A szabaddá váló CO_2-ot a Rubisco köti meg, amely a mitokondriumok körül lévő kloroplasztiszokban vannak a sejt proximális végén.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A *Binertia* levelének fotoszintetizáló sejtjeinek citoplazmájában központosan és perifériálisan is található egy-egy kloroplasztisz réteg. A központi kompartmentben lévők a HP-nak, a széli rétegben lévők a mezofillumnak felelnek meg.

3.6.10. A szén-dioxid megkötés ökofiziológiája

A növény nettó fotoszintetikus produkciója, azaz az előállított szénhidrát vázak mennyisége alapvetően a fénytől és a rendelkezésre álló CO_2 koncentrációjától függ. Továbbá lényeges tényezők: a CO_2 végső megkötésében közreműködő Rubisco enzim aktivitása, a CO_2-megkötés akceptorának, a RuBP-nak a regenerációja és a trióz-foszfátok metabolizmusa. Ezen kívül még számos környezeti tényező befolyásolja a fotoszintézis hatékonyságát, mint pl. a vízellátás, a hőmérséklet és a tápanyagellátás.

A Földre beeső napsugárzás energiája kb. 1.3 kW m^{-2}, amelynek mintegy 5%-a konvertálódik szénhidrátokba a fotoszintézis során. A beeső fény egy jelentős része (ultraibolya és infravörös) nem abszorbeálódik a fotoszintetikus pigmentekben (60%). Másik része visszaverődik a növény felületeiről, vagy áthalad a levélen (8%). Kisebb része hővé alakul, vagy fluoreszcencia formájában veszik el (8%). A metabolikus veszteség kb. 19%. A növények a fény látható spektrum tartományában (400-700 nm, **p**hotosynthetically **a**ctive **r**adiation - PAR), 85-90%-os hatékonysággal abszorbeálják a fotonokat. A karotinoidok a kék, a klorofillok a kék és a vörös tartományban. Így a növényről visszaverődő, illetve áthaladó fény a zöld sávba tartozó fotonokban gazdagabb és ez adja a vegetáció zöld színét.

A fotoszintézis szempontjából olyan fontos két tényező, a fény intenzitása és/vagy a CO_2 aktuális koncentrációja az optimálistól eltérve, lehet limitáló, vagy kerülhet túlsúlyba. A növények különböző módon és szinteken képesek alkalmazkodni (adaptálódni fenotípusosan, illetve akklimatizálódni genotípusosan) az eltérő, illetve változó fényviszonyokhoz, az emelkedő/csökkenő CO_2 koncentrációhoz, a hőmérséklet, illetve a vízviszonyok változásához.

3.6.10.1. A levél alkalmazkodása a fényviszonyokhoz

A levéllemez beállása a fény beeséséhez képest befolyásolja az abszorbeált fény mennyiségét. A fényabszorpció a legnagyobb, ha a levéllemez merőlegesen áll be a fényhez képest. Egyes növények képesek változtatni a levéllemez helyzetét, ezzel változtatni a megvilágítás intenzitását. A napfény igényes növények (lucerna, gyapot, szója, bab, csillagfürt) leveleik állását a beeső fény felé mozdítják, míg az árnyékkedvelők levelei közelítenek a fénnyel párhuzamos pozíció elfoglalására (eukaliptusz). Mások levelei szabályosan követik a Nap mozgását a keleti horizonttól a nyugatiig kb. 15^{o}-os pontossággal, fenntartva így az állandó megvilágítási körülményeket. Felhős időben ez a mechanizmus nem működik, de amint a Nap kisüt, a levelek 90^{o}/óra sebességű mozgással reorientálódnak. Fás növények lombozatának külső levelei erős megvilágítás hatására változtatják a levéllemezek állását, így több fény juthat a belsőbb elhelyezkedésű levelekhez.

A levéllemez mozgásának szabályozásának hátterében, sok esetben a kék-fény receptorok működése áll. Máskor speciálisan szerveződött sejtcsoportok ozmotikus koncentrációjának változása idézi elő a levélmozgást. A napfény beesési szögét csökkentő növényeket paraheliotropikus, a nagyobb fényintenzitás felé orientálódókat diaheliotropikus növényeknek nevezik.

3.6.10.2. A levélszerkezet alkalmazkodása a fényviszonyokhoz

Az epidermisz sejtjei átengedik a fényt, és mivel az egyes sejtek konvex alakúak, fókuszálják a fényt, így a mögöttük elhelyezkedő kloroplasztiszok több fényt kapnak, mint a beeső fény. Különösen jelentős ez az olyan növényeknél, amelyek az árnyékoló hatások miatt kevés fényhez jutnak, pl. a lombos erdők aljnövényei.

Az epidermisz alatt egy, vagy több rétegben oszlopos paliszád sejtek sorai helyezkednek el. Jóllehet ezekben a sejtekben lévő kloroplasztiszok pigmentjei jelentős fényenergiát abszorbeálnak, mégis sok fény juthat az alatta lévő további paliszád sejtekhez, sőt a levél alsó rétegeit felépítő szivacsos mezofill sejtekhez is, amelyek szabálytalan alakúak és körülöttük nagy légterek találhatók. A paliszád sejtek klorofillt nem tartalmazó térrészein átjutó fény a légterek és a sejtek határain többszörösen visszaverődik és törik, ezáltal random módon oszlik el és lényegesen hosszabb utat tesz meg a levélben. Ez a fényszórási jelenség („light scattering”) jelentősen megnöveli a fény fotonjainak abszorpcióját és közelítőleg egyenletessé teszi a levélen belüli fényellátást. Sivatagi növényeknél, ahol a nagy fényintenzitás már káros a fotoszintetikus apparátusra, számos olyan morfológiai képlet alakult ki (vastag kutikula, szőrök, sómirigyek), amelyek növelik a fényvisszaverődést, így csökkentve a fényabszorpciót.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

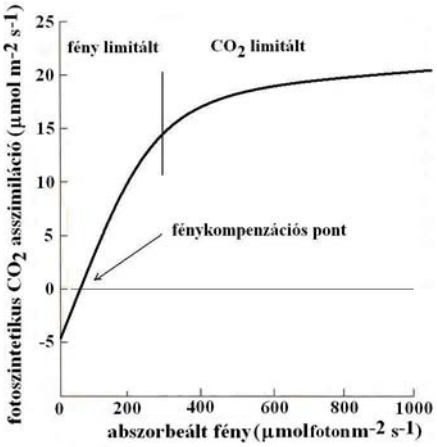
A beeső fény abszorpcióját a növény a kloroplasztiszok helyzetének változtatásával is képes befolyásolni. Alacsony fényintenzitásnál a kloroplasztiszok a beeső fényre merőlegesen, a sejt felszínnel párhuzamosan helyezkednek el. Magasabb fényintenzitáson elmozdulnak és akár párhuzamosan állhatnak be a fény irányához képest. Így akár 15%-al képesek csökkenteni a fényabszorpciót. Ez a folyamat tipikusan kék-fény receptor szabályozott, bár magasabb rendűeknél a fitokrómok közreműködése sem kizárt. A kloroplasztiszok mozgatását aktin filamentumok végzik, amely mozgás regulációjában a Ca^{2+} ionoknak van jelentősége.

A legáltalánosabb jelenség, hogy egyrészt a növények az egyedi életük során alkalmazkodnak a különböző fényviszonyokhoz és fény, illetve árnyék típusú adaptációt mutatnak, másrészt genotípusosan alkalmazkodnak a fényviszonyokhoz és fény, illetve árnyék típusú akklimatizációt mutatnak.

A fény-árnyék adaptációnak, illetve akklimatizációnak van néhány jellegzetes, eltérő vonása. Az árnyéknövényeknek magasabb a klorofill/reakciócentrum aránya. Alacsonyabb a klorofill a/b aránya, ami abból adódik, hogy több a klorofill-*b*-tartalmú fénygyűjtő antennája, valamint a levelei vékonyabbak. A fénynövények az előbbi tulajdonságokban térnek el az árnyéknövényektől ellentétes irányba, továbbá hosszabbak a paliszád sejtek, több a Rubisco-juk és a xantofill-ciklus komponenseiben gazdagabbak. Az árnyék típusú növények egy része azt a stratégiát követi, hogy a PSII/PSI reakciócentrumok arányát 3:1 arányban állítja be, ami a fényabszorpció egyensúlyát tekintve jobban megfelel a távoli vörös fényben gazdagabb megvilágításnak (a fény típusú növényeknél ez az arány 2:1). A növények egy része az egyedi életük során képes a fény-árnyék adaptációra, míg mások elpusztulnak, ha a fényintenzitás tartósan megváltozik.

3.6.10.3. A fény és a fotoszintetikus aktivitás kapcsolata

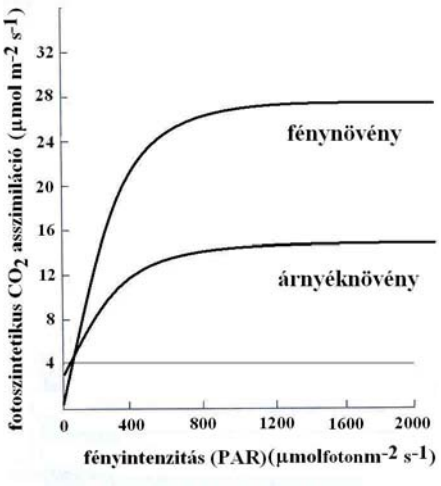
A fény kritikus környezeti tényező a növények számára és alapvetően befolyásolja a növekedést és a reprodukciót. A fénynek a növényre és ezen belül a fotoszintézisre gyakorolt hatását legjobban a fotoszintetikusan megkötött CO_2 mennyiségének mérésével lehet nyomon követni. Ezek a fény-válasz görbék számos információt nyújtanak a növény fotoszintetikus viselkedéséről (**3.40. ábra**).



3.40. ábra A fotoszintetikus CO_2-asszimiláció és a fényintenzitás összefüggése C_3-as növényekben

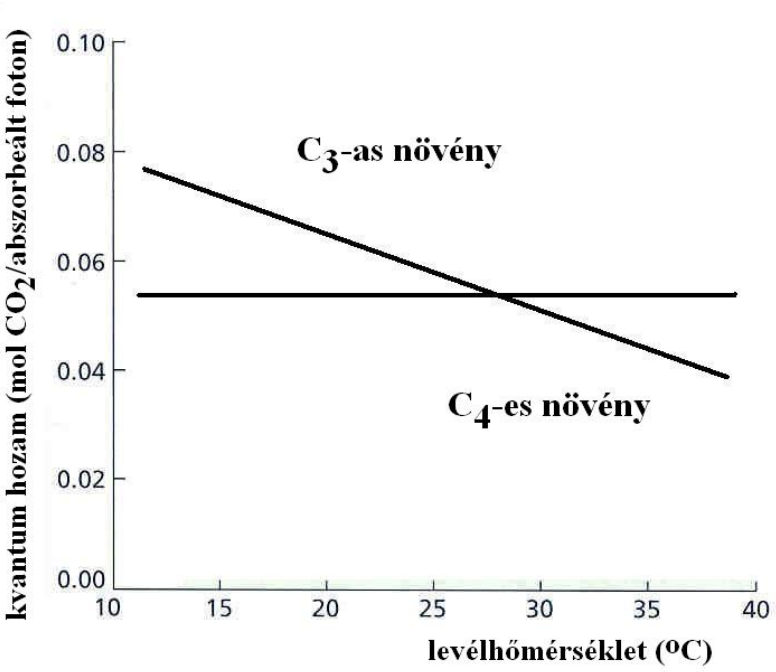
Sötétben, mikor nincs fotoszintetikus CO_2-megkötés, a növény légzési CO_2-ot bocsát ki. Az emelkedő fényintenzitásnál a növény CO_2-asszimilációja növekszik, majd egyenlő lesz a mitokondriális CO_2-kibocsátással. Ezt a pontot nevezik **fény kompenzációs pont**nak. A fénykompenzációs pont felett a növekvő fény arányosan növeli a fotoszintézis intenzitását jelezve, hogy a folyamat a fotoszintetikus elektrontranszport működésének a függvénye. A görbének ez a szakasza fény-függő. Egy bizonyos fényintenzitás elérése után a görbe telítést mutat, ami jelzi, hogy a fotoszintetikus CO_2-beépülést már más tényezők limitálják. A görbe további szakaszának lefutását a Rubisco karboxilációs kapacitása, illetve a trióz-foszfátok metabolizmusa befolyásolja. Ezért ez a szakasz CO_2-függő. (**3.41. ábra**). A fénykompenzációs pont értéke fajonként és fejlődési állapottól függően változik. Általában a fény-típusú növényeknél 10-20 µmol foton $m^{-2}s^{-1}$, míg az árnyék-típusúaknál 1-5µmol foton $m^{-2}s^{-1}$. Ez utóbbiaknál alacsony a légzés intenzitása és már alacsony fényintenzitásnál van nettó fotoszintetikus produkció, ami a korlátozott fényviszonyok között hozzájárul a növény túléléséhez (**3.41. ábra**).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



3.41. ábra A fotoszintetikus CO_2-fixáció fénygörbéje fény- és árnyéknövényeknél

A fotoszintetikus CO_2-asszimiláció a fény intenzitás emelkedésével a fény-függő szakaszban lineálisan emelkedik. Itt maximális a fotoszintézis kvantum hatékonysága, ami a megkötött CO_2/abszorbeált fotonok számával jellemezhető. A fotokémiai folyamatok kvantumhozama 0,95, a fotoszintézis maximális kvantumhozama elméletileg 0,125 körül van C_3-as növényeknél, ami 8 foton/CO_2-ot jelent. A jelen légköri CO_2 koncentráció mellett a C_3-as és C_4-es növények kvantumhozama hasonló, 0,04-0,06 mol CO_2/mol foton. A C_3-asoknál az elméleti értékhez képest a csökkenést a fotorespiráció okozta veszteség, a C_4-eknél a primer CO_2-megkötés nagyobb energia igénye okozza (lásd 3.6.7. fejezet). Ha a C_3-as leveleket O_2-mentes környezetbe helyezzük, a kvantumhozam 0,09 is lehet, míg hasonló körülmények között a C_4-es növényeknél nincs változás. A kvantumhozamot a hőmérséklet és a CO_2-koncentráció is befolyásolja (**3.42. ábra**).



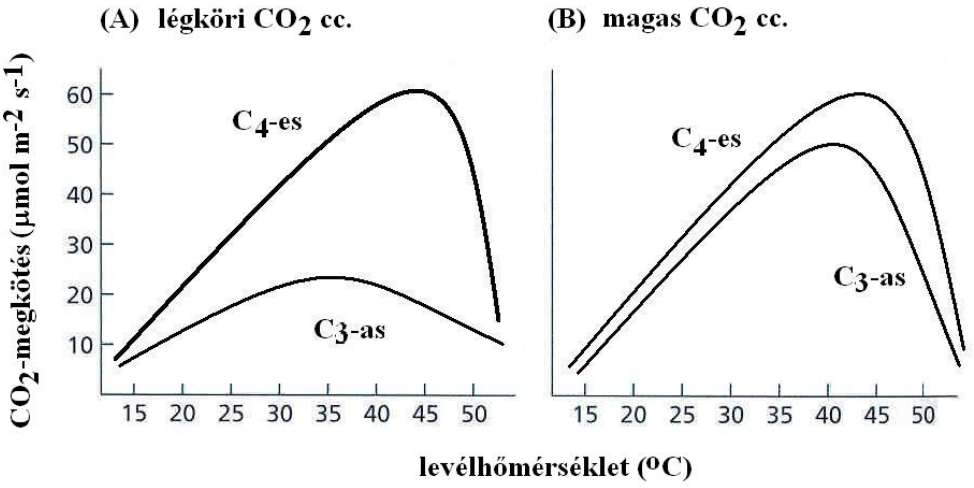
3.42. ábra A fotoszintetikus CO_2-fixáció kvantumhozama a levélhőmérséklet függvényében (mol CO_2/abszorbeált kvantum) C_3-as és C_4-es növényeknél

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

3.6.10.4. A hőmérséklet és a fotoszintetikus aktivitás kapcsolata

A Nap sugárzása jelentősen megemelheti a levél hőmérsékletét, ami károsan befolyásolná az anyagcsere folyamatokat. Több tényező biztosítja a levél hővesztését. Egyrészt a levél hőmérsékletével arányos hősugárzás kibocsátása, másrészt a légmozgás által előidézett konvekció, amikor a felmelegedő levegő cserélődik hűvösebb légrétegekkel, továbbá a szabályozott sztómamozgás révén az elpárologtatott víz hűtésével (transpiráció).

A fotoszintetikus aktivitás többek között hőmérsékletfüggő is, mivel a hőmérséklet befolyásolja a fotoszintézis biokémiai folyamatait és a membránok integritását is. A hőmérsékletfüggés jellegzetesen haranggörbe alakú, ahol a görbe felszálló ága az enzimatikus folyamatok indukcióját, a leszálló ág a gátlását mutatja. A **3.43. ábra** ezt az összefüggést szemlélteti C_3-as és C_4-es növényeknél, légköri (380 ppm) és magas (6-700 ppm) CO_2-koncentrációknál.



3.43. ábra C_3-as és C_4-es növények fotoszintetikus aktivitásának függése a hőmérséklettől normál atmoszférikus CO_2-koncentráció mellett. (A) és magasabb, telítési CO_2 koncentrációknál (B)

Légköri CO_2-koncentrációnál a fotoszintézist a Rubisco aktivitása korlátozza és az emelkedő hőmérséklet hatása két ellentétes irányú folyamat eredőjeként jelenik meg, mivel a növekvő hőmérséklet fokozza a karboxiláció sebességét, de csökkenti a Rubisco CO_2 affinitását. Figyelembe kell venni azt is, hogy a CO_2 diffúziós mozgása jobban gyorsul az emelkedő hőmérséklettel, mint az oxigéné, ami tovább rontja a CO_2 megkötés esélyeit. A magas hőmérséklet károsan befolyásolja a Rubisco-aktivázt és csökken a CO_2 megkötés mértéke. A görbe lefutása hasonló alakú, de eltérő értékű a C_3-as és C_4-es növényeknél. Az utóbbiaknál a CO_2-koncentráció nem jelent olyan korlátozást, mint a C_3-oknál.

A növények fotoszintézisének hőmérsékleti optimumát számos genetikai (adaptációs) és környezeti (akklimatizációs) tényező befolyásolja. A növények hőmérsékleti optimumát nagyban befolyásolja, hogy milyen hőmérsékleti körülmények között nőnek fel és a nagymértékű plaszticitásuk lehetővé teszi, hogy szélsőséges klimatikus viszonyok között is legyen nettó fotoszintetikus produkciójuk.

3.6.10.5. A CO2 koncentráció és a fotoszintetikus aktivitás kapcsolata

A légkör jelenlegi CO_2-koncentrációja (0.038% - 380 ppm) majdnem kétszer akkora, mint az elmúlt 420.000 év során bármikor és valószínűleg magasabb, mint az eltelt 2 millió év során. Utoljára CO_2-gazdag légkör 70 millió évvel ezelőtt, a meleg kréta időszakban volt (>1000 ppm). Az atmoszféra CO_2 koncentrációja mostanság évente 1–3 ppm-el növekszik és az előrejelzések szerint 2100-ra eléri 600-750 ppm-et, hacsak a humán tevékenység CO_2-kibocsátását erőteljesen nem korlátozzák.

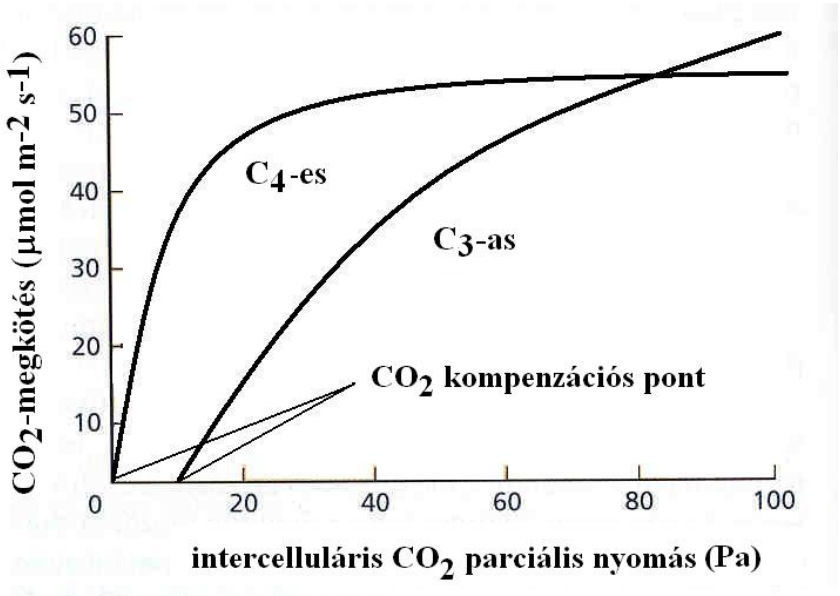
A CO_2-koncentráció növekedése az atmoszférában az üvegházhatást fokozza, ami a Föld klímájának változásához vezethet. A Földre érkező sugárzás egy része hosszú hullámhosszú (hő)sugárzásként emittálódik a világűrbe és

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

ebben a tekintetben hőegyensúly alakul ki a Földön. Néhány gáz, mint a CO_2 és a metán, a visszasugárzó hő egy részét elnyeli, és ezáltal emelkedik a légkör hőmérséklete. Rövidebb távon az emelkedő CO_2-koncentráció növeli a C_3-as növények fotoszintetikus produkcióját, megfelelő víz- és tápanyag ellátottság esetén és ezáltal a CO_2 felhasználását a légkörből, míg a C_4-esek fotoszintetikus aktivitása érdemlegesen nem változik. Hosszabb távon azonban a földi hőegyensúly megváltozása olyan klímaváltozásokhoz vezethet, amely jelentősen átrendezheti a növényvilág eloszlását és befolyásolhatja a biomassza produkcióját. Míg az első körülmény elég pontosan, a második már sokkal nehezebben és pontatlanabbul modellezhető.

A fotoszintézis számára a CO_2 bejutása és diffúziója a levélbe, illetve a levélben, eljutása a CO_2-megkötés helyéig fontos mozzanat, amit egy megfelelő koncentráció grádiens kialakulása, illetve fenntartása biztosíthat. A levél kutikulája gyakorlatilag impermeábilis a CO_2-ra nézve, ezért a bejutás szinte kizárólag a gázcsere nyílásokon keresztül lehetséges, ahol egyébként ellentétes irányú vízgőzmozgás van. A CO_2 tovább a szubsztómális térben, majd a mezofill sejtek közötti légterekben, gázfázisban mozog. Innét a további diffúzió már folyadékfázisban történik a sejtfalakban, a plazmamembránban, a citoszólban és a kloroplasztiszban. A diffúziós út minden része, más-más mértékben, diffúziós ellenállást (rezisztenciát) jelent. Mivel a sztóma rezisztencia a legjelentősebb tényező a CO_2 diffúzója során, a sztómák nyitottságának szabályozása döntő a CO_2 bejutásában és ezáltal a CO_2-megkötésének sebességében.

Ha a CO_2 már belépett a sztómákon, a diffúziója elég gyors, nem limitáló a fixálás számára. A fotoszintézis szempontjából előnyös fényabszorpcióra a levél felszíni rétegeiben több lehetőség van, az alsóbb sejtrétegek kevesebb hatásos fényt kapnak. Ugyanakkor a Rubisco eloszlása a levél keresztmetszetében haranggörbe alakú. Ennek megfelelően a levél fotoszintetikus aktivitása is ilyen lefutást mutat. A levél teljes fotoszintetikus aktivitását legjobban az intercellulárisok CO_2 koncentrációjának függvényében lehet vizsgálni (**3.44.ábra**).



3.44. ábra A fotoszintetikus aktivitás változása az intercelluláris CO_2-koncentráció (parciális nyomás) függvényében a C_4-es, és a C_3-as növénynél

A görbékre jellemző a CO_2 kompenzációs pont, ahol a nettó CO_2-beépülés zérus, jelezvén a fotoszintézis és a légzés egyensúlyát, hasonlatosan a fény kompenzációs ponthoz.

A CO_2-asszimiláció és a c_i (internal partial pressure for CO_2) kapcsolatának vizsgálata számos következtetésre ad lehetőséget:

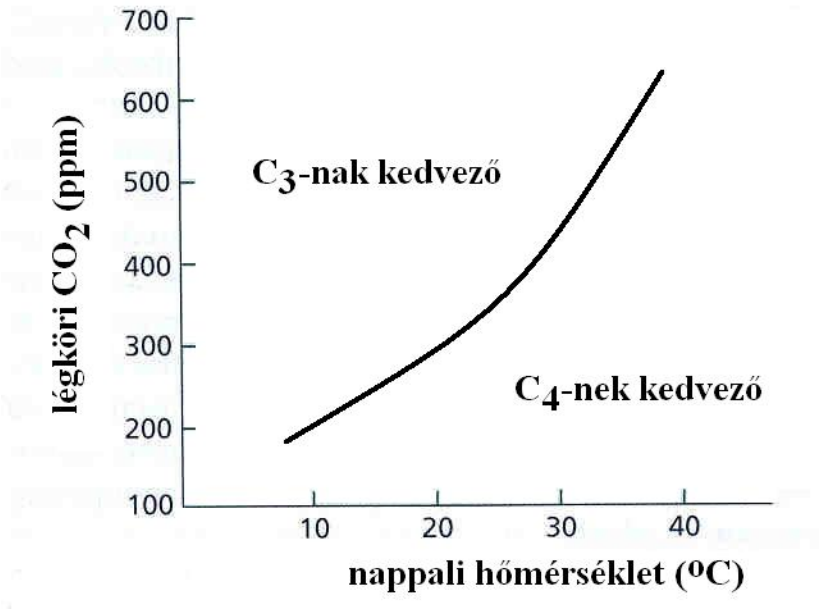
- A C_4-es növényekben a fotoszintetikus produkció már kb. 15 Pa CO_2 parciális nyomásnál telítést mutat, ami tükrözi a hatékony CO_2-megkötési mechanizmust,
- C_3-as növényekben az emelkedő c_i szint széles tartományban növeli a CO_2-megkötés hatékonyságát,

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

- C_4-es növényekben a CO_2 kompenzációs pont zéró, vagy ahhoz közeli érték, jelezvén a fotorespiráció hiányát, vagy igen alacsony szintjét,

- C_3-as növényeknél a CO_2 kompenzációs pont kb. 10 Pa, ami a fotorespiráció CO_2-termelésével függ össze.

A korábbi geológiai korokban, mikor az atmoszférikus CO_2-koncentráció a mainál jóval magasabb volt, a C_3-as növények leveleiben a c_i érték is jóval magasabb volt és ez magas fotoszintetikus hatékonyságot eredményezett. A mai viszonyok mellett, amikor a C_3-as fotoszintézis jellegzetesen CO_2-korlátozott, a földi szerves produkciónak még mindig közel 70%-át adják. A C_4-es fotoszintézis evolúciója viszonylag fiatal, kb. 10-15 millió évre tekint vissza. Ezt az adaptációs mechanizmust a globális CO_2-koncentráció csökkenés válthatta ki a legmelegebb területeken, különös tekintettel az emelkedő fotorespirációs veszteségekre és a csökkenő c_i-re (**3.45. ábra**). A C_4 további előnye egyrészt, hogy a Rubisco környezetében uralkodó magas, telítési CO_2-koncentráció miatt, a fotoszintetikus produkció kevesebb Rubisco-val is elérhető, ami kisebb nitrogén igénnyel jár együtt, ismervén, hogy ez az enzim a legnagyobb mennyiségben előforduló fehérje a növényben. Másrészt mivel a C_4 fotoszintézis alacsonyabb c_i érték mellett is hatékonyan működik, lehetőség van egy kedvezőbb vízgazdálkodásra a meleg környezetben, azaz nem kell teljesen nyitott sztómák mellett magas CO_2 diffúziós grádienst fenntartani. Energetikai szempontból a C_4 fotoszintézis kevésbé gazdaságosan használja fel a fényenergiát – több ATP-t igényel összességében a két fixálási lépés – ezért ez a fő oka annak, hogy a legtöbb árnyék-adaptált növény C_3-as.



3.45. ábra Az atmoszférikus CO_2 szint és a nappali, vegetációs periódusbeli hőmérséklet összefüggése a C_3-as és a C_4-es növények elterjedtsége szempontjából

A görbékből kitűnik, hogy egy adott CO_2-szint mellett a C_4-es növények mindig a melegebb éghajlatú területeket foglalják el. A légköri CO_2-koncentráció emelkedése ugyanakkor a C_3-as fotoszintézis térnyerésének kedvez.

3.7. Ajánlott irodalom

Heldt H-W.	Plant Biochemistry, Third Edition.	Elsevier Academic Press, San Diego, USA, pp. 45-133., 2005.
Taiz L., Zeiger E. (szerk.)	Plant physiology. Fifth edition.	Sinauer, 2010.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

4. fejezet - Légzés és szénhidrát anyagcsere

szerző: Dr. Bratek Zoltán

4.1 Lebontó (katabolikus) és felépítő (anabolikus) folyamatok a növényi anyagcserében

A növényeknek energiára van szüksége ahhoz, hogy szerves molekulákat tudjanak felépíteni a sejtek szerkezetéhez és a működéshez, hogy fenn tudják tartani életfolyamatait és szénvázait. Ennek biztosításában elsődleges a szénhidrátok, a fotoszintézis közvetlen és közvetett termékeinek szerepe. A mag csírázásának kezdeti fázisaiban a mag tartalékai mobilizálódnak, hogy kisebb molekulák képződhessenek, a tárolt keményítőből nyert glükózt felhasználhassák.

A következőkben ismertetésre kerülnek azok az anyagcsereutak, melyeken energia képződik és létrejönnek azok az alap molekulák, melyek a növekedéshez, az adaptációhoz és a reprodukcióhoz szükséges új makromolekulák létrehozására szolgálnak. E folyamatok enzimkatalizált reakciói rendkívül hasonlóak valamennyi élőlényben. A szénvázak másik meghatározó forrását a raktározott lipidek jelentik. A magban tárolt zsírok (acil-glicerolok) lebontásával például zsírsavak képződnek, melyekből a sejt szénhidrátokat tud előállítani.

Az anyagcsere utjai (metabolizmus) két csoportra oszthatók, az egyik a felépítő folyamatokat (**anabolizmus**) foglalja magába, azon energiaigényes folyamatokat, melyek a sejt komponenseit kisebb prekurzorokból bioszintetizálják; a másik csoport a lebontó folyamatoké (**katabolizmus**), melyek a tápanyagok és komplex molekulák degradációját, lebontását végzik, hogy így energiát szabadítsanak fel, illetve anyagokat hasznosítsanak. Mivel egy adott metabolit szintézise és lebontása igen gyakran szimultán történik, így egy adott metabolitnak a nettó akkumulációja vagy fogyása annak különbségét tükrözi, hogy milyen gyorsan képződik és ezzel a lebontása milyen arányban van.

A sejtben egy adott metabolit mennyisége pooljának (készletének) mérete egy adott időpontban. A poolhoz csatlakozás és elhagyás arányát forgási sebességnek nevezzük. A pool, ha mérete nem változik, egyensúlyi (steady-state) állapotban van. Gyors növekedés és fejlődés időszakaszaiban, ilyen például a magoncok kialakulása, az új szövetek és szervek strukturális és funkcionális szerkezetét kialakító anabolikus folyamatok túlsúlyban vannak a katabolikus folyamatokakkal szemben. Az ellenkezője igaz az öregedő, illetve a tartalékanyagokat mobilizáló szövet esetében. Az anabolikus-katabolikus mérleg szabályozása a bioszintetikus és a lebontó aktivitást kódoló gének expressziójának egyedfejlődési és környezeti kontrolljával történik. Ez egy jellegzetes vonása a folyamatnak a növény életciklusán keresztül. A fiatal és öreg növényekben történő katabolikus folyamatok meghatározó résztvevői a nagy energiájú metabolitok, koenzimek, oxidációs és redukciós reakciók, és enzimek. E folyamatok végbe mehetnek légköri oxigén felhasználásával és anaerob körülmények között is.

4.2 Szénhidrátok lebontásának anaerob szakasza a növényi légzésben

A növények más élőlényekhez hasonlóan, energiagazdag molekulákat, mint amilyen a glükóz, bontanak le, hogy energiát és szénvázakat termeljenek. Ebben a folyamatban, melyet sejtlégzésnek nevezünk, légköri oxigén felhasználásával a glükóz széndioxiddá és vízzé oxidálódik.

A légzés alap reakcióegyenlete szénhidrátok esetén:

$C_6H_{12}O_6$ (glükóz) + 6 O_2 → 6 CO_2 + 6 H_2O

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

(A folyamat során 32-34 (ADP+Pi) használódik fel és ugyanennyi ATP keletkezik.)

Ezen oxidatív reakcióban felszabaduló energia ($\Delta G^{o'}$-2870 kJ mol^{-1}) biztosítja az ATP-szintézist, mely nagyobbrészt a bioszintetikus folyamatokra használódik. A keletkezett ATP ugyanakkor hajtja az ionpumpákat, mint amilyen a plazmamembrán H^+-ATP-áz, illetve az organellumok és a citoszol citoszkeleton általi mozgatását biztosítja.

A sejtlégzés útjai forrásul szolgálnak a fehérjék, szénhidrátok, nukleinsavak és lipidek prekurzorainak, melyek a növekedéshez és a kifejlett szövetekben a molekulák kicserélődéséhez szükségesek. A sejtlégzés a növény valamennyi szövetében, fényen és sötétben egyaránt folyik. Egyes becslések szerint a fotoszintézis termelte cukrok 30-60 %-a használódik el a sejtlégzés során.

A sejtlégzés 3 fő reakciósorozatot foglal magába: a **glikolízist**, a **trikarbonsavciklust** és a **terminális oxidációt** (az oxidatív foszforilációval kapcsolt elektrontranszportot). Ezek a folyamatok mind más-más sejtkompartmentben zajlanak. A glikolízis enzimei a citoszolban találhatók. A trikarbonsavciklus enzimei a mitokondrium mátrixának és krisztáinak enzimeiből kerülnek ki, míg a terminális oxidáció a belső mitokondriális membránon történik. A szénhidrátok lebontásnak első lépései egy aerob sejtben nem igénylik oxigén jelenlétét (anaerob fázis). A második fázisban (részletesebben a 4.3 fejezetekben) a glükóz katabolizmus anaerob fázisából származó szerves savak teljes mértékben széndioxiddá és vízzé oxidálódnak. Ezen lépések mindegyikénél szabadul fel energia, bár különböző mennyiségekben. A továbbiakban egy glükóz molekulát fogunk követni ezeken az utakon, figyelve arra, hogy néhány intermedier a reakcióláncról letérhet, sejtalkotók szénvázának létrehozását biztosítva. Ismert még a szén- és energia-metabolizmus két másik, fontos reakcióútja: az **oxidatív pentózfoszfátút** (4.5 fejezet) és a **glioxálsavciklus** (4.6 fejezet).

4.2.1 A glikolízis

A glikolízis során egy hat szénatomos szénhidrát, a glükóz két három szénatomos (piruvát) molekulává alakul oxigéntől független reakciókban. A glikolízis a citoszolban zajló 10 enzimkatalizált reakció láncolata. A glikolitikus enzimek és intermedierek neveit a 4.1 ábra tartalmazza. A glikolízis során glükóz molekulánként 2 ATP használódik fel, ugyanakkor 2 molekula NAD^+ redukálódik NADH-vá és 4 ATP képződik. A teljes szabadenergia változás a glikolízisben: - 95.5 kJ mol^{-1}

A glikolízis összesítő reakcióegyenlete:

glükóz + 2 NAD^+ + 2ADP + 2P_i → 2 piroszőlősav + 2NADH + 2ATP

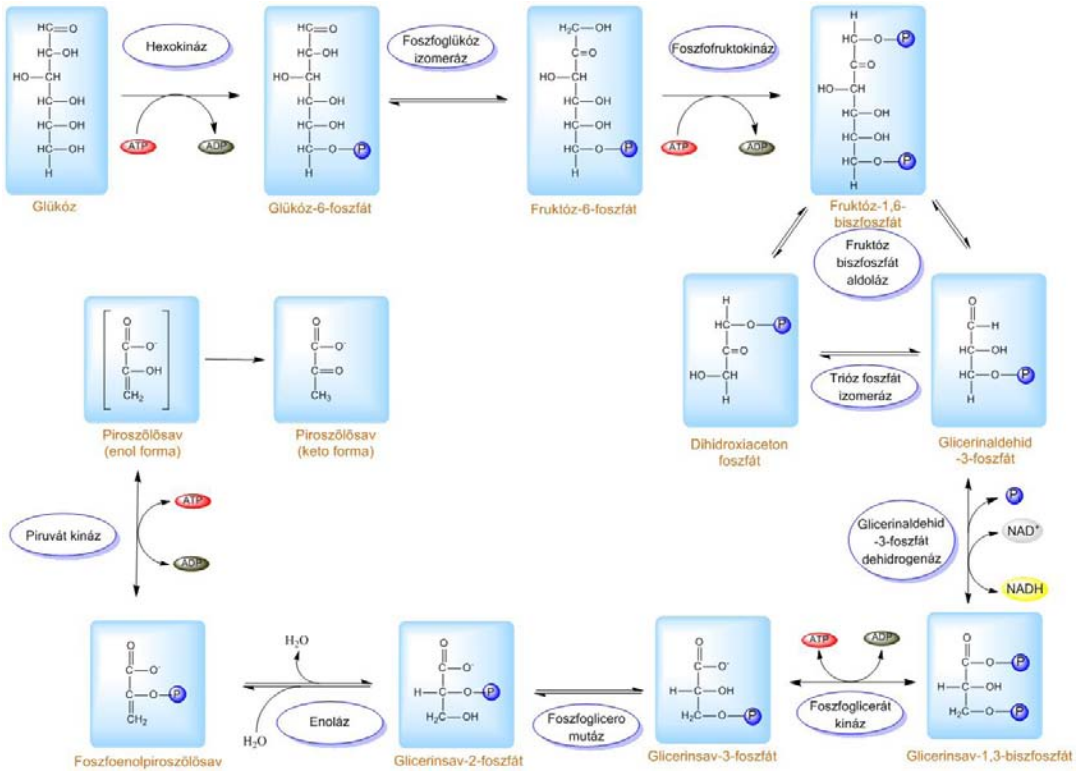
A glikolízist két fázisra lehet bontani: egy **energiabefektetést igénylő bevezető részre**, mely során a kiindulási anyagok enzimek közreműködésével aktivált állapotba kerülnek, és egy **energiatermelő szakaszra** (4.1 ábra). A bevezető szakaszban 2 ATP molekula használódik fel a glükóz foszforilálására, az első a glükóz-6-foszfát, majd a második a fruktóz-1,6-biszfoszfát képzésére (4.1 ábra). A fruktóz-1,6-biszfoszfát két köztes trióz-foszfát molekulára hasad, a glicerinaldehid-3-foszfátra és a dihidroxiaceton-foszfátra. Ez és a reverz reakció kulcs lépései nemcsak a glikolízisnek, de az anabolizmusnak is. Utóbbinál ezek a három szénatomos komponensek biztosításához kapcsolódnak, hasonlóan a glükoneogenezis során (Lásd 4.6 fejezet) vagy a fotoszintetikus széndioxid-fixációban keletkezőkhöz, hexózok képzésére szolgálnak.

Az energiatermelési (oxidációs) szakasza a glikolízisnek (4.1 ábra) azzal kezdődik, hogy a gliceraldehid-3-foszfát oxidálódik, mely során NAD^+ redukálódik (NADH-t képezve) és a P_i direkten beépül a gliceraldehid-3-foszfátba glicerinsav-1,3-biszfoszfátot képezve. A gliceraldehid-3-foszfát foszfát csoportja szubsztrát szintű foszforilációval az ADP-re kerül, így ATP képződik és a glicerinsav-1,3-biszfoszfát glicerinsav-3-foszfáttá konvertálódik.

A következő lépésben a glicerinsav-3-foszfát átalakul glicerinsav-2-foszfáttá, melyet a foszfoenolpiruvát (PEP) képződése követ, majd a glikolízis utolsó lépésében a PEP és ADP alakul át piruváttá és ATP-vé. Megjegyzendő, hogy a Mg^{2+} részt vesz valamennyi a foszfát csoport transzferével kapcsolatos reakcióban. Az ezekben a reakciókban felhasznált szubsztrátok a Mg^{2+}-ionnak és az egyes intermediereknek a komplexei.

Minden egyes a glikolízis befektetési fázisába belépő glükóz molekulára igaz, hogy belőle képződő 2 glicerinaldehid-3-foszfát lép be az energiatermelési (megtérülési) szakaszba. A továbbiakban valamennyi gliceraldehid-3-foszfát molekulára, amely átmegy a glikolízis oxidatív fázisán, 2 molekula ATP és egy NADH képződése jut. Így a bevezető szakaszban befektetett két ATP megtérül, és még 2 ATP és két NADH is képződik, mint a glikolízis nettó produktuma.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



4.1. ábra A glikolízis. Minden egyes glükóz molekulából, mely átmegy a bevezető szakaszon, mely során két glicerinaldehid-3-foszfát képződik; ezután mindkettő átmegy az energiatermelési szakaszon, melynek piruvát a végterméke. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

Amikor jelen van oxigén, a glikolízisben képződött piruvát belép a mitokondriumba, ahol (4.3 fejezet) tovább oxidálódik a trikarbonsavciklusban és a felszabadult energia ATP szintézisére fordítódik az oxidatív foszforiláció során. Ráadásul, a NADH is NAD^+-vá oxidálódik a mitokondriumban, ahol elektronjai az elektrontranszportláncba kerülnek. A képződött NAD^+ visszakerül a citoszolba és a glikolízisben újra felhasználódik.

4.2.2 Az alkoholt képző anaerob lebontás

O_2 hiányában, ilyenek például az elárasztott vagy öntözött talajokban (ha a talajpórusokból a levegő kiszorul) lévő gyökerek sejtjei, a piruvát további oxidációja a mitokondriumokban megáll. Ha a NADH redukált maradna, a NAD^+ nem lenne hozzáférhető a glikolízis bevezető szakasza számára. Ilyen anaerob viszonyok között a glikolízisben képződött NADH az alkoholos anaerob lebontás folyamata során oxidálódhat vissza. Ennek során a piruvát dekarboxileződik acetaldehidet és széndioxidot képezve. Ezután az acetaldehid redukálódásával etanol és NAD^+ képződik, így reciklizálódik a glikolízisben képződött NADH. Ezen az úton a sejt folytathatja a glükóz molekulák hozzáférhető energiája legalább egy részének kinyerését még anaerob körülmények között is. A glikolízis nemcsak hogy folytatja működését O_2 hiányában, hanem sebessége gyakran még meg is emelkedik. Ez a válaszjelenség **Pasteur-effektusként** ismert, felfedezője a híres francia mikrobiológus Louis Pasteur nyomán. A növény a glikolitikus intermedierek magasabb szintjével és a glikolitikus és fermentatív enzimeket kódoló gének fokozott expressziójával képes kompenzálni a fermentáció alacsonyabb energetikai hatékonyságát. Mivel az alkohol toxikus lehet a sejtekre, az alkoholos anaerob lebontás gyakran csak bizonyos szituációkra korlátozottan fordul elő, mint amilyen a vízborítás, ahol az alkohol ki tud diffundálni a növényekből.

Az anaerob lebontás termékeként nemcsak alkohol keletkezhet nagy mennyiségben, hanem tejsav, borostyánkősav, egyes növényekben glicerin, de mocsári növényekben felhalmozódhat almasav és shikimisav is.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

4.3 A szénhidrátok lebontásának aerob szakasza

A sejtlégzés további reakciói a mitokondriumon belül zajlanak. Egy membrán kötött komponens kivételével, a trikarbonsavciklus (Krebs-ciklusnak és citrátkörnek szintén nevezik) enzimei oldott formában találhatók a mitokondriális mátrixban, míg az elektrontranszport és az oxidatív foszforiláció teljes mértékben a belső mitokondriális membránon történik. E reakciók szubsztrátjainak, így a piruvátnak, a NADH-nak, az ADP-nek, és a P_i-nak át kell lépniük mind a külső, mind a belső mitokondriális membránon. A külső mitokondriális membrán permeábilis bizonyos kisebb molekulákra (1kDa molekulatömegig), de sok más molekulát a porin transzportál, mely egy transzport csatornaként működő fehérje. A belső mitokondriális membránon történő átjutás szubsztrátspecifikus transzportert igényel. Kiemelkedőek ezek közül a piruvát-, ADP/ATP-, P_i-, citrát- és malát-transzporterek.

4.3.1. A piruvát trikarbonsavciklusba történő belépésének előkészítése

A sejtlégzés második szakaszában a glikolízisből származó piruvát széndioxiddá oxidálódik a mitokondriális mátrixban, elektronjai az elektronhordozó NAD^+ és FAD molekulákra kerülnek át. Az első lépése ennek a szakasznak egy **előkészítő reakció**, mely a piruvátot olyan formába konvertálja, mellyel be tud lépni a trikarbonsavciklusba. Ezt a reakciót a bonyolult felépítésű **piruvát-dehidrogenáz enzimkomplex** katalizálja, mely alegységei 3 enzimet is tartalmaznak, s rajta flavin-adenin- dinukleotid (FAD), tiamin-pirofoszfát és liponsavamid koenzimek kötődnek. E reakció szubsztrátjai a piruvát, a NAD^+ és a koenzim-A (CoA). A piruvát dekarboxileződik, CO_2 szabadul fel, majd oxidálódik NAD^+ redukálódása mellett. A képződő C_2 egység, az acetát hozzákapcsolódik a CoA-SH-hoz, így acetil-CoA képződik.

A piruvát-dehidrogenáz enzimkomplex katalizálta reakciót összegző egyenlet:

Piruvát + CoA + NAD^+ → acetil-CoA + NADH + CO_2

Az acetát és a CoA közötti kötés nem stabil, reakcióképes, konzerválja az eredeti piruvát molekula energiájának egy részét. Az acetil-Coa molekula már kész a trikarbonsavciklusba történő belépésre, melynek enzimjeit és köztes termékeit a 4.2 ábra ismerteti.

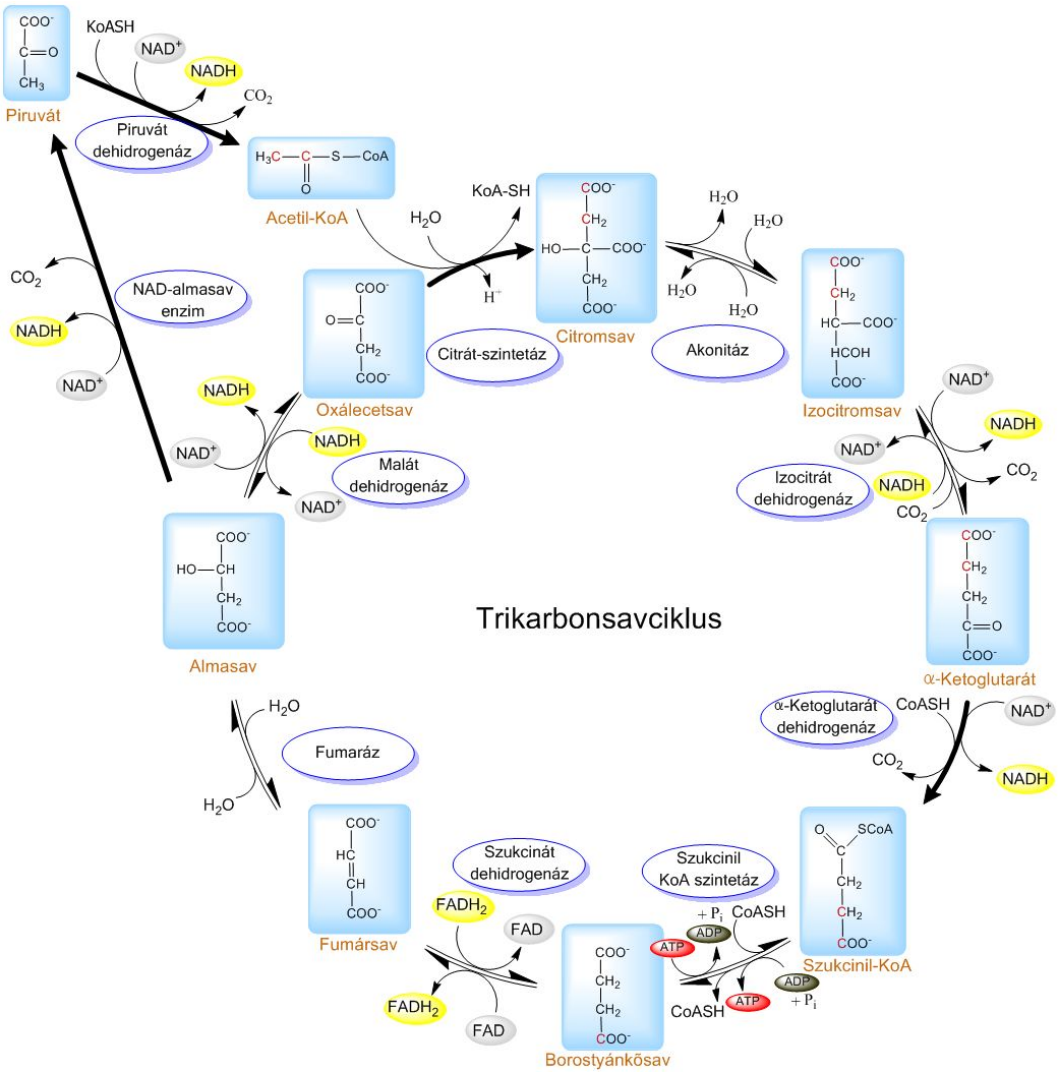
4.3.2 A trikarbonsavciklus

A trikarbonsavciklus azzal kezdődik, hogy az acetil-Coa és az oxálecetsav, egy négyszénatomos szerves dikarbonsav, kondenzációjukkal egy C_6-os szerves savat, citrátot és szabad Coa-SH-t képeznek (4.2 ábra). Majd a citrátból izomerizációval izocitrát képződik. A ciklus következő két lépése során oxidatív dekarboxileződések történnek, mindkét lépésnél CO_2 képződik és elektronok kerülnek fel (transzportálódnak) a NAD^+-ra. Először az izocitrát dekorboxileződik CO_2-t, NADH-t és egy öt szénatomos szerves savat, 2-oxoglutársavat képezve. Majd a 2-oxoglutársav termék az **α-ketoglutarát-dehidrogenáz enzimkomplex** által oxidálódik, így szukcinil-Coa, CO_2 és NADH képződik. A jelentős szabadenergia-csökkenés miatt, a reakció gyakorlatilag megfordíthatatlan. Az enzimkomplex a szerkezete hasonló a piruvát-dehidrogenáz enzimkomplexéhez, mely a piruvátot acetil-Coa-vá alakítja. A két komplex által katalizált reakciók kémiailag analógok és mindkettőnek van tiamin-pirofoszfát és liponsavamid koenzimje. Bár a reakciómechanizmusai ennek a két enzimkomplexnek nagyon hasonlóak, a piruvát-dehidrogenáz aktivitását reverzibilis foszforiláció szabályozza, addig az α-ketoglutársav-dehidrogenáz aktivitását nem.

A szukcinil-Coa szukcináttá alakul, mellyel együtt jár az ADP foszforilációja ATP-vé; ez az egyetlen trikarbonsavciklus reakció, mely direkten ATP-t produkál szubsztrátszintű foszforilációval. A szukcinát oxidációját fumaráttá a trikarbonsavciklus egyetlen membránkötött enzime, a **szukcinát(borostyánkősav)-dehidrogenáz** katalizálja. Ez elektronokat visz át a szukcinátról a kovalensen kötött FAD-ra. Az enzim egyben tagja a légzési elektrontranszportlánc II. komplexének, amelyben vas-kén centrumok is kapcsolódnak az enzimhez.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

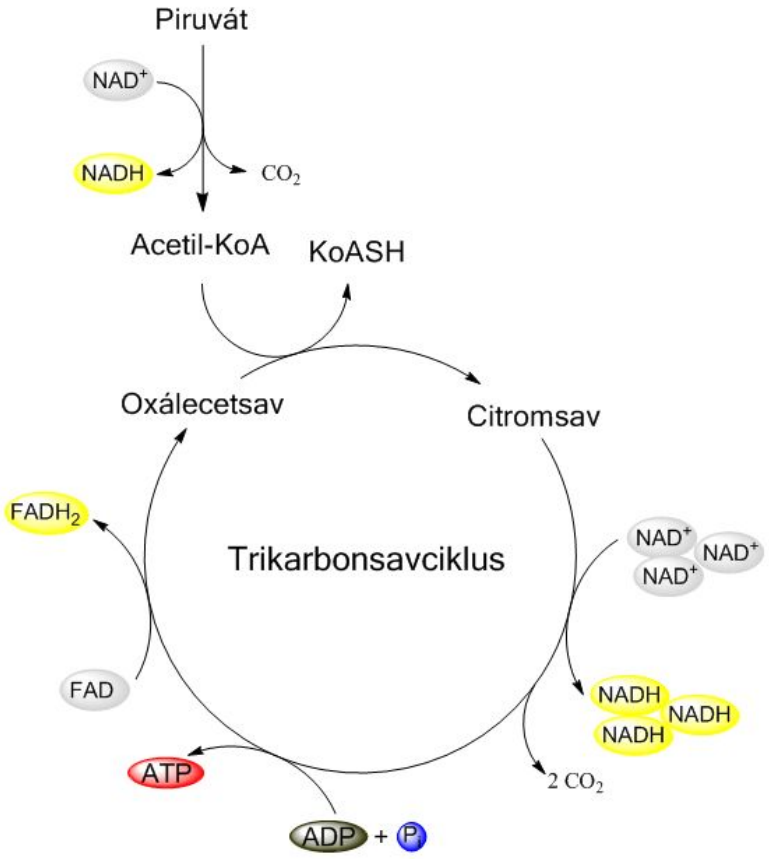
A továbbiakban a fumarát reverzibilisen hidratálódik malátot képezve. A reakciót a **fumaráz enzim** katalizálja, mely csak a mitokondriumban található meg és így megfelelő márker a mitokondriális mátrixra. A trikarbonsavciklus utolsó lépése, a malát oxidációja oxálecetsavvá, NADH-t produkál. Ez a reakció reverzibilis, *in vitro* az equilibriuma erősen kedvez az oxálacetát maláttá redukálásának. *In vivo* azonban az equilibrium az oxálacetát képződése felé van eltolódva, mert az oxidatív reakció termékei hamar felhasználódnak.



4.2. ábra A trikarbonsavciklus. A bevezető reakcióban képződő acetil-Coa a citrát-szintáz katalizálta reakcióban az oxálecetsavval egy trikarboxil C_6 vegyületet, citrátot képez. Az acetil-Coa acetil feléből származó C-atomokat piros szín jelöli.

Összegezve, a trikarbonsavciklus előkészítő reakciója és egy azutáni komplett fordulata alatt, a piruvát 3 szénatomja széndioxidként felszabadul, egy ATP direkten képződik, és még 4 NADH és 1 $FADH_2$ molekula képződik. Az ATP, NADH, és a $FADH_2$ képzik a sejt fő energia forrásait (4.3. ábra).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



4.3. ábra A trikarbonsavciklusban képződött termékek. (Jones et al., 2012 után)

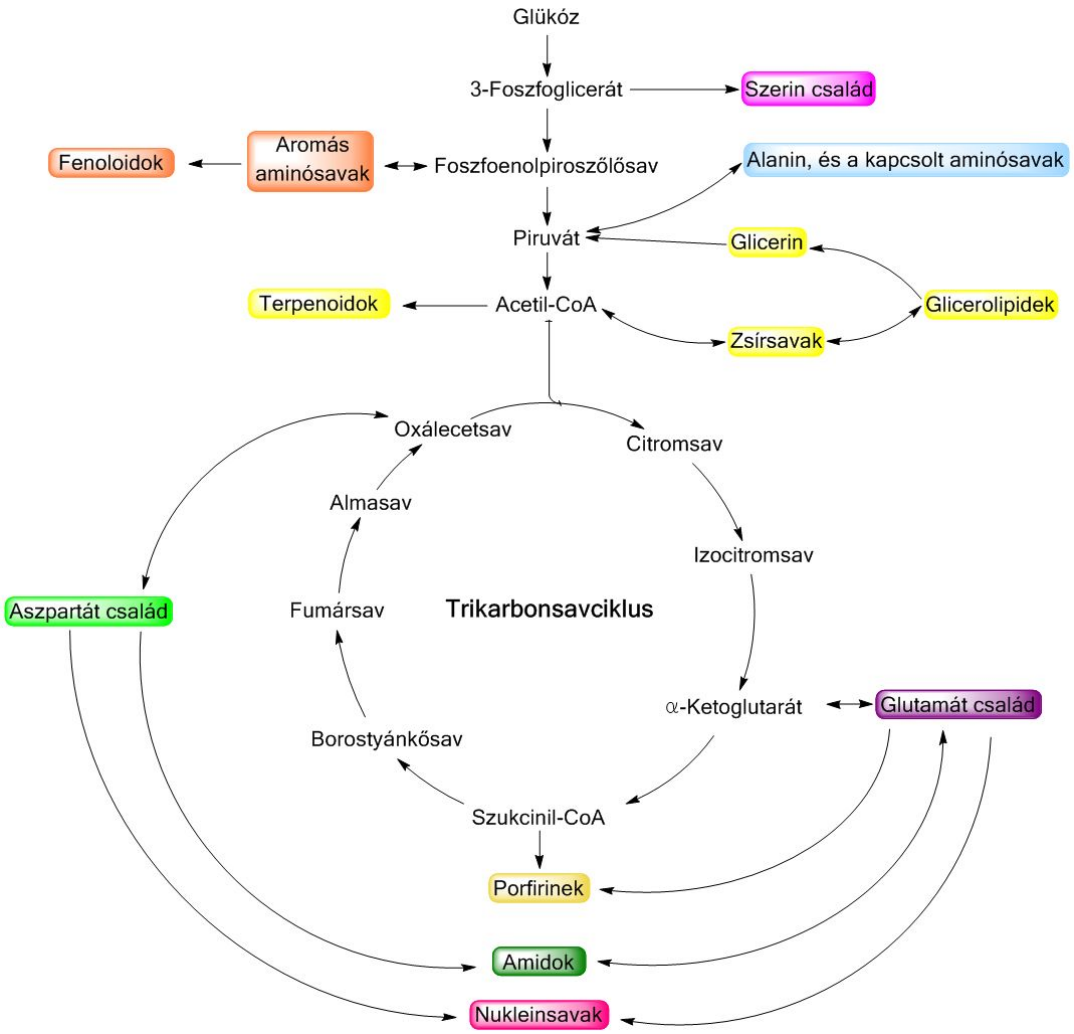
Habár a trikarbonsavciklus legtöbb enzime elektronakceptorként NAD^+-ot használ, NADP-specifikus izoformái az izocitrát-dehidrogenáznak és a malát-dehidrogenáznak a sejt más részeiben jelen vannak. Például a peroxiszómák NADP-izocitrát-dehidrogenázt tartalmaznak. Az ilyen enzimek által képzett NADPH-nak sokféle lehetséges sorsa lehet. Ez azonnal oxidálódhat a növényi mitokondrium elektrontranszportláncában. Emellett, a NADPH egy elektrondonor számos mitokondriális reakció számára, beleértve a dihidrofolát tetrahidrofoláttá redukálását, mely egy szubsztrátja a C_2 fotorespirációs ciklusnak; az oxidált glutation redukcióját, mely véd a mitokondrilis elektrontranszport során képződő oxigén reaktív gyökök ellen; a mitokondriális tioredoxinok redukcióját, melyek aktiválják az alternatív oxidázt (4.4.2 fejezet). A citoszolban található NADP-specifikus izocitrát-dehidrogenáz bőségesen található a levél sejtekben, de ha kiütjük az ezt kódoló gén aktivitását, csak kis változást találunk a növekedésben és a szén- és nitrogén metabolitok profiljában. Úgy gondolják, hogy ennek az enzimnek az aminosavak metabolizmusában és a patogénekre adott válaszreakciók redox szignalizációs folyamataiban van szerepe.

A legtöbb trikarbonsavciklus enzimnek vannak tehát izoenzim formái, melyek nem a mitokondriumban, hanem más sejtkompartmentekben találhatók. A fumaráz enzim kivétel, ami kizárólagosan a mitokondriumban található és gyakran használják e sejtszervecske specifikus markereként.

4.3.3 Aminosavak és zsírok oxidálódnak a glikolízisben és a trikarbonsavciklusban

A glikolízisnek a glükóz az elsődleges szubsztrátja, de a lipidek és az aminosavak bontási temékei szintén betáplálhatók ezen anyagcsereútba. A lipidek katabolizmusa és egyes aminosavak lebontása, beleértve a glutamátot, acetil-Coa-t vagy olyan intermediereket termel, melyeket a trikarbonsavciklus felhasznál (4.4 ábra). Azokban a magokban, melyekben nagy mennyiségű tartalékfehérje van (például a pillangós növények magjai), az aminosavak jelentik a fő energiaforrást. Az aminosavak lebontása azokban a szövetekben, ahol a nitrogén a tartalékfehérjékből remobilizálódik (például magok, vagy öregedő levelek) gyakran összekapcsolt amidok (glutamin és aszparagin) szintézisével. Elsődlegesen ezek azok a szerves molekulák, melyekben a nitrogén nagy távolságokra transzlokálódik a növényen belül. A glikolízis és a trikarbonsavciklus által lebontott szubsztrátok összegzése a 4.4 ábrán található.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



4.4. ábra A glikolízis és a trikarbonsavciklus felépítő és lebontó folyamatai.

4.3.4 A trikarbonsavciklus és a glikolízis szénvázakat biztosít a bioszintézisekhez

A növényekben a trikarbonsavciklus mind az energiát biztosító katabolikus folyamatokban, mind a bioszintézisek anabolikus folyamataiban részt vesz. A ciklus számos bioszintetikus út számára biztosít prekurzorokat (4.4. ábra). Ezek közül kiemelendők a zsírsavak szintézisére felhasználódó acetil-Coa, valamint az oxálecetsav és az α-ketoglutársav, melyek az aszpartát és glutamát aminosavak megfelelő prekurzorait szolgáltatják. Azon kívül, hogy a glutamát fehérjék alkotó része, egyben aminosavak prekurzora is. A szukcinil-Coa a porfirin bioszintézishez használódik fel. A glikolitikus intermedierek szintén szolgáltatnak prekurzorokat a bioszintézisekhez: a glicerinsav-3-foszfát a szerin számára, a foszfoenolpiruvát az aromás aminosavak, a piruvát pedig az alanin számára. Mind a glikolízisre, mind pedig a trikarbonsavciklusra elmondható tehát, hogy nem csupán energiát biztosítanak, de a sejt bioszintetikus szükségleteihez kiindulási anyagokat is nyújtanak.

Mivel a bioszintézis folyamatok szükségleteihez intermedierek kerülnek kivételre a trikarbonsavciklusból, a kieső trikarbonsavciklus komponenseket **anapleurotikus reakciók** töltik újra, melyek során CO_2 adódik hozzá a glikolitikus intermedierekhez. A **foszfoenolpiruvát-karboxiláz** és az **almasav-enzim** azok a CO_2-fixáló enzimek, melyek ezt a funkciót, vagyis a ciklus metabolitjainak pótlását, újratöltését a növényekben elsődlegesen ellátják.

A PEP-karboxiláz katalizálta reakció egyenlete: Foszfoenolpiruvát + HCO_3^- → oxálacetát + P_i

Az almasav-enzim katalizálta reakció egyenlete: piruvát + NADPH + CO_2 → malát + $NADP^+$

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

4.4 A redukált koenzimek oxidációja

A glikolízis és a trikarbonsavciklus működése során létrejött redukált kofaktorokban, a $NADH_2$ és a $FADH_2$-ben, valamint a pentózfoszfátciklusban képződött NADPH-ban nagy mennyiségű energia tárolódik. Ezek visszaoxidálásával így jelentős mennyiségű energia szabadul fel. A NADPH nagyobbrészt a bioszintézisek reduktív folyamataiban vesz részt.

A redukált koenzimek visszaoxidálásának lehetőségei a növényekben az alábbiak:

Mitokondriális oxidációk:

- citokróm út (citokróm-a-a_3)

- alternatív út (cianidrezisztens út, alternatív oxidáz)

Extramitokondriális oxidáció (direkt végoxidázok)

A következőkben ismertetésre kerülnek a fenti oxidatív utak a növényi specialitások részletesebb bemutatásával. A mitokondriális elektrontranszport és a kapcsolt ATP-szintézis folyamatait, mivel ezek valamennyi mitokondriummal rendelkező élőlényben nagyon hasonlóan játszódnak le, és biokémia könyvekben ezekről részletesebb leírások találhatók, így csak röviden, összefoglaló jelleggel tekintjük át. Fontos megemlíteni, hogy a mitokondriális elektrontranszport és a kapcsolt ATP-szintézis nagyfokú hasonlóságot mutat a fotoszintetikus elektrontranszportlánc és a kapcsolt ATP-szintézis folyamataival és struktúráival, melyeket a 3.5.7. fejezet részletesen ismertet.

4.4.1 Mitokondriális elektrontranszport a citokrómokon keresztül és kapcsolt ATP-szintézis

A folyamat során a redukált kofaktorokban tárolt energia az ATP-szintézishez kapcsolt mitokondriális elektrontranszportláncon keresztül szabadul fel, miközben az O_2 vízzé redukálódik. A lánc négy, a mitokondriális membránhoz kapcsolt sok alegységből álló fehérjekomplexet foglal magába. A komplexek között az elektronokat az ubikinon (UQ) és redukált formája az ubikinol (UQH_2) szállítja.

Az I. Komplex számos polipeptidből épül fel, NADH-dehidrogenáz funkciót lát el, a NADH-ról az elektronokat az ubikinonra juttatja. A II. Komplex egy szukcinát-dehidrogenáz, mely kovalensen kötött FAD-ot tartalmaz. A III. Komplexet citokróm-c1 és különböző citokróm-b-k építik fel, kötött hem kofaktorral rendelkezik. Az I., II. és III. Komplexek mind tartalmaznak Fe-S centrumokat. A III. Komplex az elektronokat a UQH_2-ről kapja és ezek a citokróm-c-re kerülnek. A IV. Komplex egy citokróm-oxidáz(a-a_3), mely az elektronokat a citokróm-c-ről kapja és az O_2-t vízzé redukálja.

Az elektrontranszport folyamán az I., II. és IV. Komplexek protonokat pumpálnak a belső membránon keresztül a mátrixból az intrakrisztális térbe és ez hajtja az oxidatív foszforilációt, az ATP ADP-ből és P_i-ból történő szintézisét. A III. komplex esetében a protonok membránon keresztüli szállítása a UQ-ciklus mechanizmusával történik (lásd 4.5 ábra, vesd össze 3.5.1. fejezet). A teljes UQ-ciklus 2 fordulatból áll, melyek során 2 molekula UQH_2 oxidálódik, 4 proton transzportálódik, 2 elektron kerül át a IV. Komplexre, és egy molekula UQ redukálódik. Az elektrontranszport során az intermembrán térben akkumulálódott protonok hajtják meg a sokegységből álló F_0F_1-ATP szintáz komplexen folyó ATP-szintézist. Az F_0 hidrofób egység membránba ágyazott és proton csatornaként működik. Az F_1 fejrész a belső membrán mátrix felőli oldalán található és ATP-t szintetizál egy a pH-változással összefüggő konformáció változási mechanizmussal, három szubsztrátkötőhellyel rendelkezik. Az intakt mitokondriumban általában 10 proton kerül átpumpálásra minden 2 elektronnak a láncon, a NADH-tól az O_2-ig történő transzportja során, mialatt körülbelül 2,5 ATP molekula képződik. A II. Komplexen kötött FADH-nak az oxidációja 1.5 körüli ATP termeléssel jár.

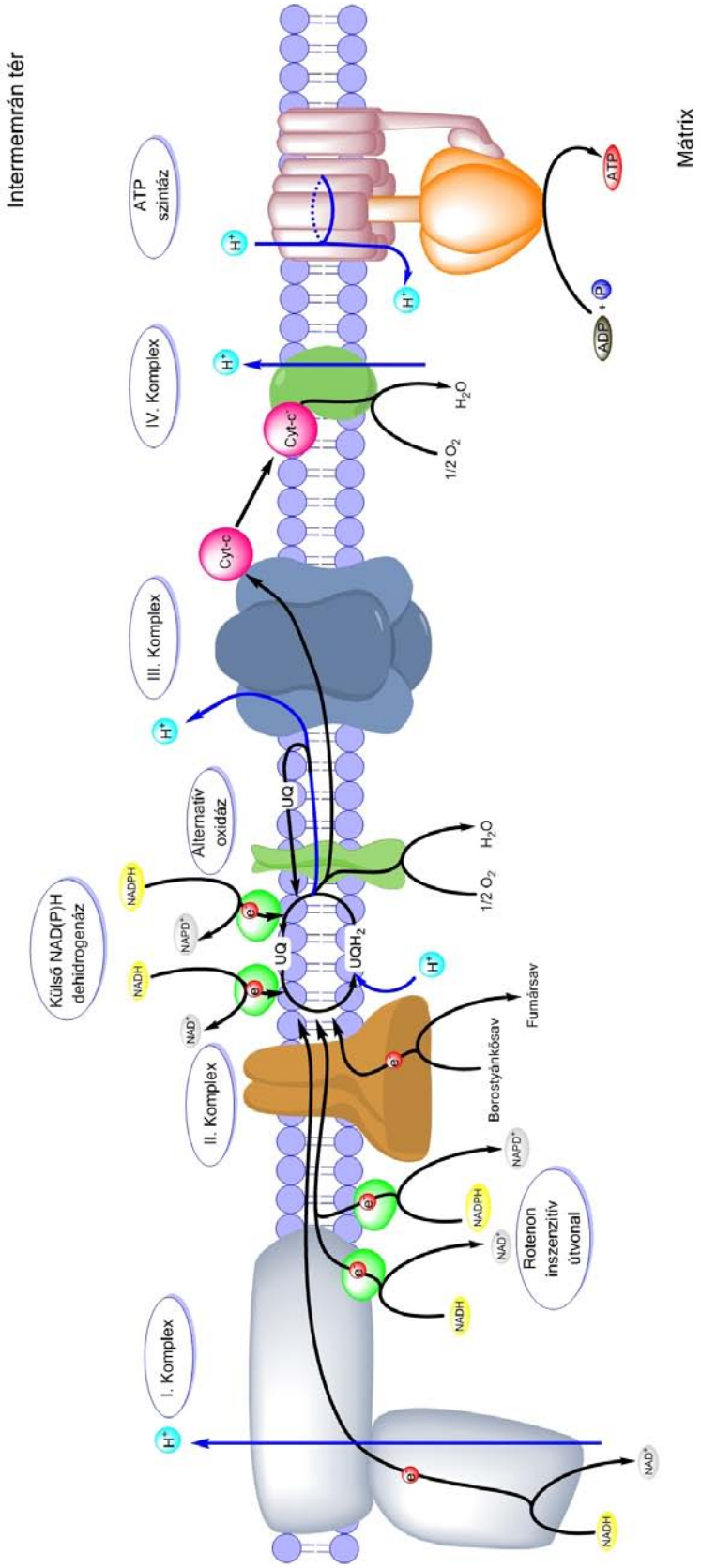
A normálisan működő mitokondriumokban az elektrontranszport és az ATP-képzés szorosan kapcsoltak, vagyis elektronszállítás csak akkor mehet végbe, ha egyidejűleg ATP is képződik. Az ATP-képzés intenzitása ilyenkor a meghatározó, limitáló tényezője az elektrontranszport sebességének. A két folyamat szétkapcsolható, például mechanikai hatásokkal (sebzés, mitokondriumok izolálása), vagy speciális, a membránt a protonok számára

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

átjárhatóvá tevő szétkapcsolószerekkel (2-4-dinitrofenol, dikumarol, egyes zsírsavak és antibiotikumok). Ekkor az elektrontranszport gyorsabbá válik és az oxigénfelvétel is gyorsul.

Mind az ATP-képzés, mind az elektrontranszportlánc reakciói megfordíthatók, így ATP adagolása (és a citokróm-oxidáz gátlása) mellett a NAD^+ redukálható.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



4.5. ábra Az alternatív oxidáz kapcsolata a mitokondriális növényi elektrontranszportlánc felépítésével a belső mitokondriális membránon. Láthatók az alternatív oxidáz és két további rotenon-rezisztens NAD(P)H-dehidrogenáz együtt egy külső NAD(P)H-dehidrogenázzal, az I-IV. Komplexek és az ATP-szintáz. (Jones et al., 2012 után) Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

4.4.2 A mitokondriális oxidáció alternatív útja (cianidrezisztens légzés)

A növényi mitokondriumok tartalmaznak egy utat az elektronok UQ-ról O_2-re történő szállítására, mely elkerüli a citokróm-c oxidázt (IV. Komplex) (4.5 ábra). Ez az **alternatív oxidáz** megtalálható a szárazföldi növényekben, sok algában és gombában, és néhány protozoában. Az alternatív oxidáz inszenzitív a III. és IV. Komplexek inhibitoraira, így az alternatív oxidázon keresztüli elektronáramlás intenzívvé válik a citokróm-oxidáz klasszikus gátlóinak (cianid és szénmonoxid) alkalmazásakor és a III. Komplex gátlásakor (antimycin-A). Ugyanakkor, ez az alternatív út specifikusan gátolható szalicilhidroxámsavval és propilgalláttal. Az alternatív oxidáz erősen kötődik a belső membránhoz és elektronokat terel el az elektrontranszport útról az UQ-pool szintjén. Az elektronokat a UQH_2-ről veszi fel és direkten az O_2-re juttatja, miközben termékként víz képződik. Az alternatív oxidáz protonokat nem mozgat, sőt ez az út elterelheti az elektronokat a háromból kettő proton tanszlokációs helyről. Ezért, az alternatív oxidáz működtetésekor kevesebb ATP keletkezik (vagy egyáltalán nincs foszforiláció), és több energia veszik el hőként. A citokróm típusú és az alternatív út tehát párhuzamosan működik, arányuk a növény élettani állapotától függ. Magas ADP-koncentrációk esetén a citokróm út teljes intenzitással működik, az alternatív út ilyenkor alig vagy egyáltalán nem aktív. Ha azonban az ADP koncentrációja csökken (az ATP koncentrációja pedig nő), az alternatív útra kerülnek az elektronok.

Több növény kihasználja az alternatív oxidáz **termogén** (hőt generáló) hatását, melyek közül különösen az *Arum* nemzetség fajait tanulmányozták. Számos fajnál a kifejlődő virágokban képződött hő növeli meg a megporzó rovarokat vonzó illatok kibocsátását.

Az alternatív oxidáz bizonyos fokú működését a legtöbb növény szövetei mutatják, de aktivitása széles skálán mozoghat. Így például az alternatív oxidáz szintézisét gyakran stimulálják stressz hatások, mint a tápanyagok hiánya vagy a szárazság, melyek reaktív oxigénformák létrejöttét indukálják (lásd 10.6. fejezet). Az alternatív légzést folytató szövetek minden esetben élénk bioszintézist folytatnak. Úgy tűnik, hogy az alternatív oxidáz út a kinon-pool túlredukálásának megelőzésére szolgáló út lehet, melynek egyben alapvető feladata a veszélyes reaktív oxigén-formák képződésének kontrollja.

4.4.3 Extramitokondriális oxidáció (direkt végoxidázok)

A növényi sejtekben a mitokondriumon kívül is számos végoxidáz található. Direkt végoxidázoknak azért nevezik őket, mert nem kapcsolódnak membránhoz kötött elektrontranszporthoz. Ezek úgy oxidálnak el légzési szubsztrátokat, hogy ATP nem képződik, a felszabaduló energia hő formájában távozik el. Kisebb részük a citoplazmában szolubilis formában található, többségük sejtszervecskékhez, vagy a sejtfalhoz kötött. Szubsztrátspecificitásuk és így biokémiai szerepük is változatos. Felépítésükre az jellemző, hogy prosztetikus csoportjuk valamilyen átmeneti fémion vagy flavin nukleotid.

A továbbiakban röviden tárgyaljuk a legfontosabb direkt végoxidázokat.

Fenol-oxidázok

A növényi szövetek sérülésekor megfigyelhető barnulási reakciók ezen enzimek működésének köszönhetők, mivel a fenol-oxidázok által képzett kinonok egymással és egyéb molekulákkal igen stabil melanin-jellegű színes polimerekké oxidálódnak össze.

A legismertebb közülük a katekol-oxidáz, vagy polifenol-oxidáz, mely difenolokból O_2 felhasználásával kinonokat és vizet képez. Monofenolokat is elfogad szubsztrátként, melyeket első lépésben O_2 felhasználásával difenolokká, majd kinonokká alakít át.

A képződött kinonokat a NAD(P)H-kinon-oxidoreduktáz enzimek visszaredukálhatják fenolokká NAD(P)H redukált koenzimek oxidációjával

Fotoszintetizáló szövetekben a kloroplasztiszokban, nem fotoszintetizáló szövetekben a peroxiszómákban lokalizált. Az enzim négy alegységből épül fel, s alegységenként 1-1 Cu-iont tartalmaz.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A fenol-oxidázok részt vesznek a növényi rezisztencia kialakításában. Az általuk katalizált enzimreakciókban keletkező igen reaktív kinonok képesek a vírusokat inaktiválni, sőt a vírusfertőzött területeken a sejtek teljesen eloxidálódhatnak (hiperszenzitív reakció), így jellegzetes lokális léziók keletkeznek. A fenoloxidázoknak szerepük van a sebzések után kialakuló légzésnövekedésben, a gesztesedésben és feltehetően az indolecetsav szintézisében is.

Aszkorbinsav-oxidáz

A szintén Cu-tartalmú enzim O_2 jelenlétében az aszkorbinsavat dehidro-aszkorbinsavvá oxidálja:

L-aszkorbinsav +1/2 O_2 +H^+ → dehidro-aszkorbinsav + 2 H_2O

A dehidro-aszkorbinsav visszaredukálását glutation oxidálása mellett a glutation-dehidro-aszkorbinsav-oxidoreduktáz végzi. Az oxidált glutationt pedig a NADPH oxidációjával a NADPH-glutation-oxidoreduktáz enzim redukálja vissza.

Az aszkorbinsav-oxidáznak kiemelkedő szerepe van a sejt redoxpotenciáljának beállításában az aszkorbinsav/dehidro-aszkorbinsav és a glutation/oxidált glutation arányok beállításán keresztül, így a bioszintetikus folyamatokra éppúgy hatása van, mint az érés és az öregedés folyamataira.

Glikolsav-oxidáz

Az enzim O_2 felhasználásával a glikolsavat glioxálsavvá oxidálja, de sok más savat is elfogad szubsztrátként.

glikolsav +O_2 → glioxálsav + 2 H_2O

Mivel prosztetikus csoportja FMN, az oxidáció során nem víz, hanem hidrogénperoxid keletkezik. A glioxálsav a NADH-specifikus vagy a NADPH-specifikus glioxálsav reduktáz enzim segítségével. A glikosav-oxidáz peroxiszómákban és glioxiszómákban található. Szintézise fitokróm kontroll alatt áll. A fénylégzésben is fontos szerepe van.

Peroxidázok

Működésük során hidrogéndonorokat oxidálnak el hidrogénperoxid felhasználásával:

Donor (red) + H_2O_2 → Donor (ox) + 2 H_2O

Protohem prosztetikus csoportot tartalmaznak. A H-donorra vonatkozó kicsi specificitásuk is hozzájárul, hogy számos anabolikus (pl. lignin és etilén bioszintézise) és katabolikus (pl. flavonoidok lebontása) folyamatban játszanak szerepet és részt vesznek a rezisztencia kialakításában is. A zöld szövetek kloroplasztiszában a glutation és az aszkorbinsav specifikus oxidációját végzi, a nem fotoszintetizáló szövetekben viszont a citoplazmában található.

Kataláz

Általánosan előforduló, elsősorban a peroxiszómákban és a glioxiszómákban lokalizált. 4 alegységből áll és hem prosztetikus csoporttal rendelkezik. A sejtekben, lúgos közeg esetén, a flavin enzimek működése során keletkezett hidrogénperoxid bontását végzi:

2 H_2O_2 → 2 H_2O + O_2

Savas közegben viszont peroxidatív aktivitással bír.

Szuperoxid-dizmutáz

A sejtekben keletkező szuperoxid (O_2^-) eliminálását végzi:

2 O_2^- + 2 H^+ → 2 H_2O_2 + O_2

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A rendkívül reakcióképes szuperoxid-ion keletkezik enzimreakciókban (xantin-oxidáz, aldehid-oxidáz, flavoprotein-dehidrogenázok), illetve a fotoszintézis fényszakaszában, amennyiben az elektronakceptor foglalt. Két alegységből épül fel, mindkettőben található Cu^{2+} és Zn^{2+} is.

4.5 Az oxidatív pentózfoszfátút

A glikolitikus út mellett más utak is léteznek, melyeken a sejt a szénhidrátokat le tudja bontani. Kiemelkedő szerepe van a növényekben az **oxidatív pentózfoszfátútnak** (4.5. ábra). Bizonyos körülmények között ugyanis nem a glikolízis reakciói indulnak meg, hanem a glükóz-6-foszfát oxidálódik és dekarboxileződik a köztes pentózon, a ribulóz-5-foszfáton keresztül, CO_2 keletkezése közben, $NADP^+$ elektronakceptort használva.

A pentóz-foszfát utat összegző reakció egyenlete:

6 glükóz-6-foszfát + 7 H_2O + 12 $NADP^+$ → 5 glükóz-6-foszfát + 6 CO_2 + P_i + 12 NADPH +12H^+

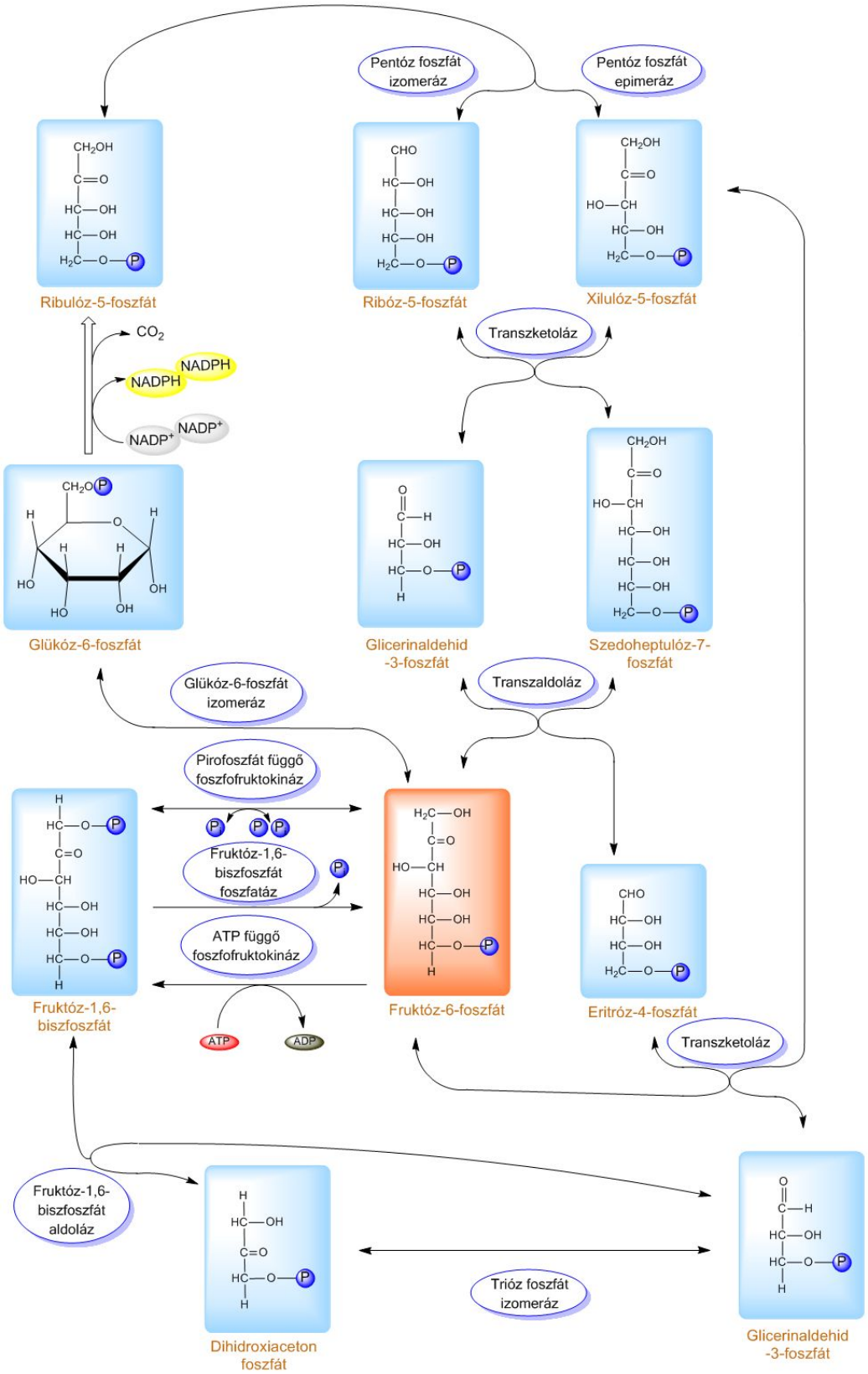
Ez az út jelen van mind a plasztiszokban, mind a citoszolban, bár a plasztiszon belüli út általában a túlsúlyban lévő. A plasztisz út elsősorban éjszaka működik, amikor terméke, a NADPH a fotoszintézis folyamatain keresztül nem hozzáférhető (lásd 3. fejezet).

4.5.1 A pentózfoszfátútnak oxidatív és regeneratív fázisai vannak

A pentózfoszfátútnak két szakasza van: az **oxidatív fázisa**, melyben a glükóz-6-foszfát egymást követően átalakul 6-foszfoglükonáttá és NADPH-vá, majd ribulóz-5-foszfáttá, széndioxiddá és NADPH-vá (4.6 ábra); és a **regeneratív, nem oxidatív fázisa**, melyben a glükóz-6-foszfát ribulóz-5-foszfátból regenerálódik egy hat enzimreakcióból álló úton (4.6 ábra). A reakcióút szöchiometriailag, feltételezve, hogy egyetlen intermedier sem térül el más bioszintetikus úti célok felé, azt mutatja, hogy a glükóz-6-foszfát, mely a C_6-poolt erősítette, a ciklus hat fordulata során teljes mértékben oxidálódik CO_2-á. Ez azt jelenti, hogy minden hat C_6 résztvevőből egy emittálódik 6 CO_2 molekula formájában és a megmaradó 5 C_6-váz regenerálódik egy a C_5, C_4, C_7 és C_3 intermediereket összekötő folyamat során a regeneratív fázisban. Ezek, a glükóz-6-foszfát újbóli helyreállításával, alkalmassá válnak az oxidatív fázisba történő újbóli belépésre.

Fontos megjegyezni, hogy a pentózfoszfátút működése során nincs ATP-képzés szubsztrátszintű foszforilációval; a glükóz-6-foszfát molekula összes energiája NADPH formájában raktározódik el. A NADPH felhasználható bioszintézisekben vagy ATP termelésére a mitokondriumokban, a NADPH a mitokondriális légzési elektrontranszportláncban történő oxidálódásával, vagy a fotoszintézis Calvin-ciklusával történő kölcsönhatásban.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



4.6. ábra Az oxidatív pentózfoszfátút. A reakció út oxidatív szakaszában a glükóz-6-foszfát ribulóz-5 foszfáttá oxidálódik, miközben NADPH és CO_2 keletkezik. Az út regeneratív szakaszában a glükóz-6-foszfát ribóz-5-foszfátból regenerálódik. A transzaldoláz enzimtől eltekintve, a regeneratív szakasz enzimei már tárgyalva lettek a Calvin-ciklus kapcsán a 3.6.2. fejezetben. Az oxidatív szakasz reakciói irreverzibilisek, míg a regeneratív szakasz reakciói könnyen megfordíthatók.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

4.5.2 A pentózfoszfátút számos bioszintetikus útvonal intermediereinek forrása

Ennek az útnak a regeneratív fázisában képződő intermedierek felhasználhatók a sejtalkotók bioszintéziseiben. Így például a ribulóz-5-foszfát az RNS, DNS, ATP és számos koenzim szintézisében kerülhet felhasználásra. A növényekben az eritróz-4-foszfát, egy négy szénatomos intermedier, az egyik prekurzora az **aromás aminosavak** szintézisének, valamint rész vesz **másodlagos növényi metabolitok** szintézisében, mint például a lignin és a flavonoidok (11. fejezet).

A pentózfoszfátút regeneratív fázisának intermedierei és legtöbb enzime a Calvin-ciklusnak is résztvevője (3.6.2. fejezet). A zöldülésen átmenő plasztiszokban, az oxidatív pentózfoszfátút intemedierei felhasználódhatnak a Calvin-ciklus intermediereinek forrásaként, míg a fotoszintetikus képességek teljesen ki nem fejlődnek.

A pentózfoszfátút aktivitását elsősorban a glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz enzim aktivitása határozza meg. Ezt az enzimaktivitást nem befolyásolja az ATP koncentrációja, de a folyamat során képződő NADPH gátolja, mely gátlás pH-függő.

4.6 A glioxálsavciklus és a glükoneogenezis

Olyan növényekben, amelyek magjai jelentős mennyiségben raktároznak zsírokat, olajokat, csírázásuk során a lipidek lebontása a szénhidrátok bioszintéziséhez kapcsolódik. A raktározó szövetekben ilyenkor a zsírsavak β-oxidációjával nagy mennyiségben keletkező acetil-Coa a glioxálsavciklus és a glükoneogenezis folyamatain át glükózzá, majd szacharózzá alakul.

A glioxálsavciklus lépései a mitokondrium, a citoplazma és a glioxiszóma tereiben zajlanak. Az acetil-CoA belép a glioxiszómába és izocitráttá alakul. Az izocitrát-liáz és a malát-szintáz a glioxálsavciklus meghatározó enzimei, az izocitrátot maláttá alakítják, mely bent marad a glioxalát-ciklusban, és szukcináttá alakul át. A szukcinát a mitokondriumba kerül át és belép a trikarbonsavciklusba. A mitokondrium a szukcinátot maláttá, a szénhidrátok előanyagává alakítja.

A glükoneogenezis, mely a nem cukor alapú prekurzorokból glükóz képzésére szolgáló folyamat, követi a glioxálsavciklus reakcióit. Ennek során a szukcinátból képződő malát a citoszolban oxálecetsavvá alakul, amelyet a PEP-karboxiláz enzim foszfoenol-piruváttá alakít. A glükoneogenezis a foszfoenolpiruvátot hexózokká konvertálja. A hexóz és a PEP között a glikolízis összes enzime, kivéve a foszfofruktokinázt és a hexokinázt, reverzibilis. A fruktóz-1,6-biszfoszfatáz és a foszfoglükomutáz összekötik ezeket a reakciókat, megengedve, hogy a PEP cukrokká alakuljon lényegében a glikolízis reverz irányban történő futásával. A fruktóz-1,6-biszfoszfatáz az AMP és a fruktóz-2,6-biszfoszfát által allosztérikusan gátolt.

4.7 A légzési folyamatok szabályozása

A légzési folyamatok az elsődleges anyagcserének központi elemei, így ezek megfelelő irányítása és más élettani folyamatokkal összehangolása kulcsfontosságú. Az intermedierek aktuális szintje biokémiai utakon keresztül, egy finom (gyors, pillanatról pillanatra történő) és egy lassúbb (hosszú időtartamú) szabályozás összehangolt működésével állítódik be, mely folyamatot metabolikus kontrollnak nevezünk. A katalizált reakció sebességére az enzim mennyiségének direkt hatása van, mely megváltoztatható a génexpresszió felül- vagy alulregulációjával. Ennél a szabályozási útnál nagyobb időkeret szükséges érezhető enzimaktivitás változáshoz, ezért a fehérjék szintézisére építő szabályozási mechanizmus általában csak a lassúbb kontrollhoz járul hozzá.

A légzés gyors szabályozása többnyire a meglévő enzimek metabolitokra való érzékenységén keresztül valósul meg, mivel a metabolitok közvetlen kölcsönhatása a fehérjék katalitikus vagy szabályozó helyeivel növeli vagy csökkenti azok aktivitását.

Ebben a fejezetben összegzésre kerülnek mindazok a finom és a durva kontrollt biztosító folyamatok, melyek a légzés szabályozásában szerepet játszanak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

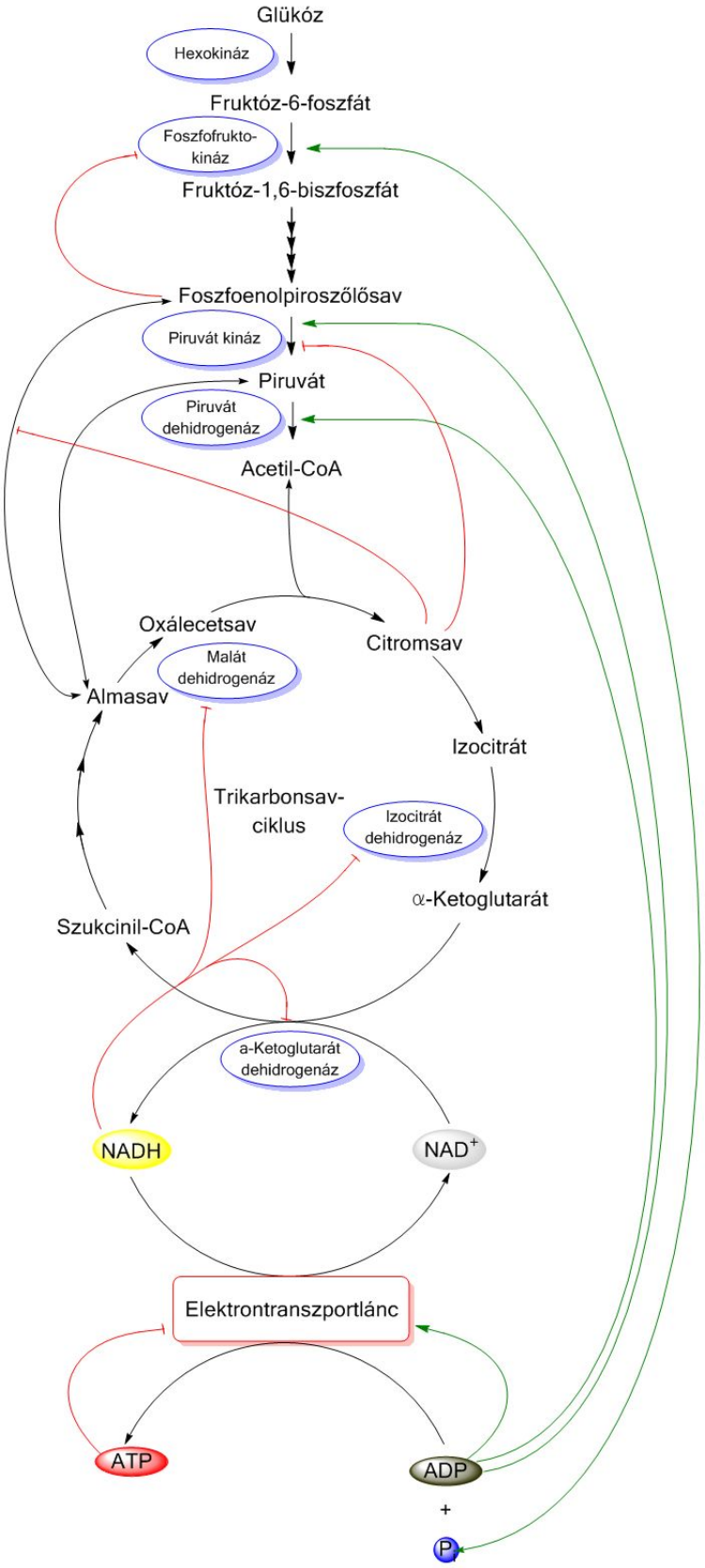
4.7.1 A légzés finom kontrollja az enzimaktivitások metabolikus szabályozásával

A sejtlégzési metabolitok képzésének szabályozása végső soron a légzési elektrontranszport lánc általi NADH reoxidáció sebességéhez és a sejt ATP hasznosításának mértékéhez igazodik. **Metabolikus kontroll analízisnek** nevezzük a szubsztrátok és termékek képződésének egy biokémiai út enzimein keresztül történő tanulmányozását. Egy rövid és el nem ágazó egyszerű reakció út esetében annak sebessége az egész reakció út sebességét meghatározó lépésre, tulajdonképpen a sebesség meghatározó enzim aktivitására alapozódhat. Valójában a metabolikus utak komplex hálózatok és fluxusuk az egész összekötött rendszernek a tulajdonsága. A metabolikus kontroll analízis segítségével meghatározható az egyes reakciók közreműködése a teljes út fluxusához és követhető a rendszer és komponenseinek válasza változások, mint a metabolitok koncentrációjának változása, egy környezeti szignál vagy egy fejlődési esemény, hatására.

Részletes metabolikus kontroll analízisek történtek a növények glikolízisének, trikarbonsavciklusának és mitokondriális elektrontranszportláncának vizsgálatára. Ezeknek az analízisek flexibilis szerveződést és alternatív reakciókat tártak fel, amely megnehezíti a sebesség meghatározó lépések és pontok meghatározását a fluxus szabályozásában. A légzés biokémiájának teljes rendszerében a metabolikus kontrollban betöltött szerepük tekintetében néhány reakció különösen figyelemreméltó (4.7. ábra). A foszfofruktokináz kontrollja a glikolízisben egy példája a folyás irányába eső intermedierek általi negatív „feedback”-visszacsatolásnak. A fruktóz-6-foszfát átalakulását fruktóz-1-6-biszfoszfáttá aktiválja a P_i és erősen gátolja a PEP és más glikolitikus metabolitok is. Hasonló ehhez, ahogy a piruvát-kinázt aktiválja az ADP és gátolják a trikarbonsavciklus egyes termékei (4.7 ábra).

A trikarbonsavciklus anyagcseréjének kontrollját az előkészítő reakcióban részt vevő piruvát-dehidrogenáz komplex szabályozása példázza legjobban. A piruvát-dehidrogenáz enzim egyik komponense gátolva van, miután egy ATP-dependens kináz foszforilálja. A foszfát csoport foszfatáz enzim általi eltávolítása reaktiválja az enzimet. A proteinkináz aktivitását pedig számos metabolit modulálja. A piruvát gátolja a kinázt, biztosítva, hogy a dehidrogenáz aktív legyen, amikor bőségesen áll rendelkezésre a szubsztrátja. Ráadásul „feed-back” gátlás alá is esik termékei, az acetil-CoA és a NADH által. A trikarbonsavciklus más dehidrogenázai (malát, izocitrát, a-ketoglutarát dehidogenázok) az acetil-Coa és a NADH által szintén negatív visszacsatolással gátlódnak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



4.7. ábra A légzés metabolikusan szabályozásának visszacsatolási pontjai. (Jones et al., 2012 után)

Az elektrontranszport sebessége az O_2-felvétel sebességével együtt az ADP és a P_i hozzáférhetősége által is szabályozottak. ADP vagy P_i hiányában az ATP-szintáz F_o protoncsatornája blokkolva van. A belsőmembrán

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

protongrádiense addig épül, míg ez egy hátsó kemiozmotikus nyomást létre nem hoz, amely további proton transzlokációkat már korlátoz a membránon keresztül. Mivel az elektrontranszport erősen kapcsolt a proton transzlokációhoz, egy nagyobb proton felhalmozódás szintén korlátozni fogja az O_2 fogyasztást. Egy „steady-state" állapotban, az elektrontranszport sebességét az szabályozza, hogy az intermembrán tér protonjai milyen sebességgel folynak vissza a mátrixba. Amikor a ADP és P_i elérhető, a protonok áramlása az ATP szintázon keresztül gyors; ha azonban az ADP vagy a P_i, vagy mindkettő hiányzik, a protonok csak lassan szivárognak át a belső membránon.

A protonok átfolyása bizonyos anyagokkal, az un. **szétkapcsolókkal** drasztikusan növelhető, melyek **protonhordozóként vagy protoncsatornaként** szerepelnek. A szétkapcsolók engedik a protonokat a belső membránon keresztül kiegyenlítődni. Ez a protongrádiens összeomlásához vezet és így az ATP szintézis megáll, azonban az elektrontranszport sebessége és az O_2-fogyasztás növekszik, mert a protoncsatorna okozta blokk megszünt.

4.7.2. Légzési folyamatok kölcsönhatásai egyéb anyagcsereutakkal

Fényen a zöld szövetek CO_2-t asszimilálnak a Calvin-ciklusban és egyidejűleg CO_2-t veszítenek a fotorespirációban. Sötétben a levelek már nem fotoszintetizálnak tovább, de továbbra is képeznek CO_2-t és ATP-t a légzésen keresztül. A megvilágítás és a sötét légzési fiziológiájában tapasztalható különbségek a fotoszintetikus szén és az energiametabolizmussal történő kölcsönhatás következményei. A fotoszintézis légzési szubsztrátokat szolgáltat. A glikolízis és a kloroplasztisz szénmetabolizmusának egy fontos kapcsolódási pontja a **plasztisz külső membránjának triózfoszfát transzportere**. A Calvin-ciklus C_3 intermedierei és a P_i kicserélésével a triózfoszfát transzporter direkten modulálja a foszfofruktokináz aktivitását.

A légzésnek optimalizáló hatása is van a fotoszintézisre. A légzés például elősegíti a fotokémiai reakciókban képződött redukáló ágensek exportját. A mitokondrium elektrontranszport lánca alapvető szerepet játszik ezen ágensek felhasználásában, így megelőzhetővé válik a fotoszintetikus elektrontranszport komponenseinek a túlredukálódása és a tilakoid membránok oxidatív károsodása.

A mitokondriális légzés másik igen fontos feladata a fotorespiráció során képződő glicin oxidációja. Azoknak a **transzgénikus növényeknek**, melyeknél a trikarbonsavciklus komponenseit kódoló géneknek csökkent az expresszió, mint például az akonitáz vagy a malát-dehidrogenáz, megemelkedik a fotoszintézis sebessége és a száraz anyag akkumuláció. Ezt az magyarázza, hogy csökken a trikarbonsavciklus kompetíciója a szacharóz bioszintézis prekurzorai iránt.

A fény közvetlenül szabályoz számos fotoszintetikus enzimet a kötött **tioredoxinok** redox állapotán keresztül, hatása a ferredoxin/tioredoxin rendszeren (lásd 3.5.4. fejezet) át kiterjed a kloroplasztiszban zajló elektrontraszpora. Egyes légzési komponenseknél szintén redox kontroll valósul meg a -S-S- kötések tioredoxin mediálta kovalens modifikációjával. A citoszol- és a mitokondrium-specifikus tioredoxinoknak felfedezése szintén bizonyíték a légzés redox kontrolljára a fehérjék SH-csoportjának kovalens módosításával. A légzési komponensek közül a tiol-redukció általi aktiválás bizonyítást nyert többek között a citoszol NAD-glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz és aldoláz, valamint a mitokondriális citrát-szintáz esetében. Ismert, hogy az alternatív oxidáz aktivitása is redox kontroll alatt van; az alegységei között egy -S-S- kötés létrehozása inaktiválja az alternatív oxidázt. A redukált tioredoxin felbontja a kötést és aktiválja a fehérjét. Egyes tioredoxinok az ATP képződését is serkentik a CF_1-ATP-áz serkentésével. A tioredoxin-m a glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz gátlásával megakadályozza az oxidatív pentózfoszfátút beindulását, a fény így közvetve mintegy „bekapcsolja" a széndioxidfixáció és -redukció folyamatait.

4.7.3 A légzési aktivitás durva kontrollja a génexpresszió szabályozásával

A fény közvetlen befolyással van a légzésre a mitokondriális fehérjék fotoreceptor-mediált transzkripciós kontrollja által. A trikarbonsavciklus legtöbb enzime nem fényregulált, de az *Arabidopsis* 2 malát-dehidrogenáz enzime a megfigyelések szerint fény hatására indukálódik. Az egyik esetében, a hatás érzékeny a vörös és a távoli vörös fényre, mely a **fitokróm indukció** szerepét jelzi. A fény szintén befolyásol 3 enzimatikus lépést a trikarbonsavciklus szénbelépési pontjánál, ezek a piruvát-dehidrogenáz, a citrát-szintáz és az akonitáz. A mitokondriális légzési láncot kódoló géneknek hozzávetőleg 10%-a mutat fénnyel kapcsolatos változást expressziójában. Ezek közé tartoznak

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

a citokróm-c génjei (amelyek érzékenyek a kék, de a vörös és a távoli vörös fényre is), ADP/ATP karrier fehérje, és egy a légzési komplex összeszerelésében fontos fehérje. A rotenon-inszenzitív NAD(P)H-dehidrogenázt kódoló gén transzkripciója erősen fényfüggő, mely hatást a fitokróm és a kék fény receptor **kriptokróm** egyaránt mediálja. A fényen nevelt növényekből izolált mitokondriumok alternatív oxidáz kapacitása magasabb, mint a sötétben nevelt növények mitokondriumaié. Ebben mind a fotoszintetikusan aktív fény, mind az alacsony intenzitású vörös fény induktív volt. Ez a megfigyelés azt sugallja, hogy egy nem proton-pumpáló alternatív légzési lánc aktiválódhat fényben. Ez kapcsolatban lehet azzal az igénnyel, hogy foglalkozni kell a magas NADH szinttel, melyet a glicin-dekarboxiláz képez a fotorespiráció során.

Az oldható cukrok a légzés által felhasznált elsődleges metabolikus források. A cukrok, a szignalizációs utakban betöltött szerepük miatt is, erőteljes hatással vannak a gének expressziójára, nem csupán a szénanyagcsere, de a fejlődési utak génjeire és a környezeti hatásokra aktiválódó génekre is. A szacharóz és a hexózok, melyek a szacharóz hidrolízisének termékei (glükóz és a fruktóz), induktív vagy represszív hatással rendelkeznek sok légzési enzim génjének **transzkripciójára**. A növényi sejteknek elkülönült szenzorai vannak a szacharózra, a glükózra és a fruktózra; az általuk detektált szacharóz: hexóz arányok változásai különböző transzdukciós utakhoz vezetnek. A cukor-érzékeny rendszerek vagy növekedést elősegítők, vagy gátlók. A glikolízis első lépését katalizáló enzim, a **hexokináz** (HXK), lehet egy példa a növekedést támogató útra, illetve egy protein-kináz az un. **SnRK1** (Snf1-Related Kinase1) lehet egy gátló hálózat komponensére példa. A két rendszer a cukor anyagcserére való érzékenységén keresztül van kölcsönhatásban.

Az *ArabidopsisHXK1* és a rizs *HXK5* és *HXK6* gének által kódolt enzimek mint glükóz szenzorok funkcionálnak. A HXK glükóz-érzékelő képessége főleg a mitokondriumban jellemző és független glikolitikus szerepétől, a glükóz glükóz-6-foszfáttá konvertálásától. A HXK egy frakciója a sejtmagban található nagy molekulasúlyú komplexekben, melyek represszálják a fotoszintetikus gének expresszióját és támogatják azoknak a transzkripciós faktoroknak a proteoszóma-mediált degradációját, melyek a növények hormon szignalizációs útjain működnek. Az *Arabidopsishxk1* mutánsai glükóz inszenzitívek és csökkent szár-és gyökérnövekedést mutatnak, késedelmes virágzást és szeneszcenciát és megváltozott auxin és citokinin szenzitivitást. Ezek az eredmények a HXK jelentőségét bizonyítják mind a vegetatív, mind a reproduktív növekedésben.

Az SnRK1 a növényi homológja az Snf1-nek, mely a fő regulátora a fermentációból az aerob metabolizmusba történő átmenetnek az élesztőkben. SnRK1 egy protein kináz, amelynek egyaránt van poszt-transzlációs inhibitor és transzkripciós aktivátor szerepe, így széleskörű befolyással van a növekedésre és a környezeti válaszokra. Ezt aktiválja a sejtbeli magas szacharóz, vagy alacsony glükóz koncentráció, vagy mindkettő, egy sötét periódus és a tápanyagok megvonása. Az SnRK1 gátol számos fontos metabolikus reakciót a megfelelő enzimek foszforilációjával, többek között a nitrát-reduktázt és a szacharóz-foszfát-szintázt.

Az aktivált SnRK1 szintén stimulálja a szénmobilizáció enzimeit kódoló gének transzkripcióját, beleértve a szacharóz-szintázt és az α-amilázt. Azok a növények, melyekben az SnRK1 expressziója kísérletesen gátolt számos fejlődési rendellenességet mutatnak, így abnormális polleneket, satnya gyökereket és korai szeneszcenciát. Érzékenység sóstresszre és a patogének fertőzéseire szintén megfigyelhető a SnRK1-deficiens növények esetében. Ilyen kísérletek támasztják alá azt az elgondolást, hogy az SnRK1 egy kulcsszereplő a metabolizmus és a fejlődés átfogó szabályozásában.

Mivel alapvető szükség van gyakorlatilag valamennyi növényi szövetben az energiára, a reduktánsokra, az elődleges metabolikus utak komponenseire jellemzően, a légzési enzimeket is olyan gének kódolják, melyekre az jellemző, hogy a növény egész élete során és viszonylag egyenletesen expresszálódnak.

Összegzésként elmondható, hogy légzési aktivitás szabályozása hierarchikus jellegű a növényekben, s benne megtalálhatók a finom skálájú, pillanatról pillanatra történő, a szubsztrát fluxus szintjétől és a visszacsatolásoktól függő szabályozó elemek csakúgy, mint az alacsonyabb amplitúdójú és kiterjedtebb időkerettel bíró durvább szabályozások, melyek a környezeti és fejlődési szignálások hatására történt génaktiválódásokra és –repressziókra épülnek.

4.8. Ajánlott irodalom

Farkas G.	Növényi biokémia.	Akadémiai Kiadó, Budapest, 1984.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Jones R., Ougham H., Thomas H., Waaland S.	The Molecular Life of Plants.	Wiley-Blackwell, 2012.
Láng F. (szerk.)	Növényélettan. A növényi anyagcsere I-II. 2. kiadás.	ELTE Eötvös kiadó, Budapest, 2002.
Pethő M.	Mezőgazdasági növények élettana.	Akadémiai Kiadó, Budapest, 2002.
Taiz L., Zeiger E. (szerk.)	Plant physiology. Fifth edition.	Sinauer, 2010.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

5. fejezet - A növényi lipidanyagcsere

szerző: Dr. Nyitrai Péter

5.1. Bevezetés

A lipidek az élő szervezetben előforduló, változatos kémiai szerkezetű vegyületek. Együttes tárgyalásukat néhány közös fizikai, illetve kémiai tulajdonságuk indokolja. Vízben rosszul, szerves oldószerekben jól oldódnak. Amfipatikus, kettős karakterű, összetett molekuláik felépítésére a hosszabb szénláncú apoláros (főként zsírsavak) és a poláros jellegű vegyületkomponensek egyaránt jellemzőek. Közöttük a kapcsolat főként észter típusú kötésen keresztül jön létre. Az élő szervezet felépítésében és működésében több szempontból is lényeges szerepet töltenek be. Az apoláros raktározható és mobilizálható lipidek – a neutrális zsírok és olajok – szerepe elsősorban energetikai, míg az amfipatikus lipidek – foszfolipidek, glikolipidek, szulfolipidek, szfingolipidek – jelentős része a biológiai membránok szerveződésében, míg mások jellegzetes növényi funkciók ellátásában (fotoszintetikus pigmentek, elektrontranszport láncok redox komponensei), a védekezésben (viaszok, kutin, szuberin, tokoferolok, oxilipinek), a hormonháztartásban (abszcizinsav, gibberellinek, brasszinoszteroidok, jázmonátok) és az egyéb speciális növényi anyagcserefolyamatokban vesznek részt.

5.2. Zsírsavak

5.2.1. A zsírsavak csoportosítása, szerkezete, előfordulásuk

Bár a növényvilágban mintegy 300 különböző zsírsav mutatható ki, legtöbbjük csak rendkívül korlátozott számú fajban és ugyanakkor igen változó mennyiségben fordul elő. A zsírsavszintézis természetéből adódóan a leggyakrabban megtalálható **„közönséges" zsírsavak** páros szénatomszámú, nem elágazó, telített (laurin-, mirisztin-, palmitin-, és sztearinsav), illetve telítetlen (olaj-, linol-, és linolénsav) szénláncú monokarbonsavak. Az említettek a növényekben előforduló zsírsavak 89-97%-át alkotják (**5.1. táblázat**). A zsírsavak szerkezeti jellemzésére általánosan elfogadott jelöléseket használnak, amelyek a szénatomok és a kettős kötések számát, a kettős kötések pozícióját és geometriáját (c-*cisz,* t-*transz*) mutatják. Linolsav esetében a 18:2 (9c12c) jelölés azt jelenti, hogy a 18 szénatomos láncban két kettős kötés van a 9. és 10., valamint a 12. és 13. szénatomok között, és a kettős kötések *cisz* geometriájúak. A kettős kötés helyzetét általában a karboxil csoporttól számozva adják meg. Ha a számozás a $-CH_3$ végtől kezdődik, a zsírsav jelölése: ω.

5.1. táblázat A leggyakrabban előforduló közönséges zsírsavak elnevezése és szerkezete

Triviális név	jelölés	összegképlet	szisztematikus név
laurinsav	12:0	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	dodekánsav
mirisztinsav	14:0	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	tetradekánsav
palmitinsav	16:0	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	hexadakánsav
sztearinsav	18:0	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	oktadekánsav
olajsav	18:1 9c	$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	oktadecénsav
linolsav	18:2 9c12c	$CH_3(CH_2)_4CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	oktadekadiénsav
linolénsav	18:1 9c12c15c	$CH_3(CH_2CH{=}CH)_3(CH_2)_7COOH$	oktadekatriénsav

Az általánosan és nagyobb mennyiségben előforduló közönséges zsírsavak mellett ***minor zsírsavak*** is megtalálhatók. Ezek a legtöbb növényben jelen vannak, de általában csak néhány százalékban, vagy nyomokban. Esetenként azonban fő komponenssé léphetnek elő, mint például az arachidinsav a tamariszkusz viaszában, a lignocerinsav a cukornád levelében, a palmitolénsav és a *transz-Δ*3-hexadecénsav a kloroplasztisz membránok foszfogliceridjében (**5.2. táblázat**).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Végül vannak olyan ***„különös" vagy ritka zsírsavak***, amelyek csak igen korlátozott számú növényfajban mutathatók ki, de ezeknél a raktározott zsírokban lévő zsírsavak jelentős százalékát alkotják, mint például a ricinusolajsav a *Ricinus communis*-ban 90%, a petroszelinsav a *Petroselinum sativum*-ban 76%, az erucinsav a *Brassica napus*-ban 75%, a szterkulinsav a *Sterculia foetidá*-ban 50% (**5.2. táblázat**).

5.2. táblázat Néhány minor, illetve „különös", vagy ritka zsírsav elnevezése és szerkezete

Triviális név	**összegképlet**	**jelölés**
lignocerinsav	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	24:0
palmitoleinsav	$CH_3(CH_2)_5CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	16:1 9c
transz-Δ3-hexadecénsav	$CH_3(CH_2)_{11}CH{=}CHCH_2COOH$	16:1 3t
erucinsav	$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_{11}COOH$	22:1 13c
petroszelinsav	$CH_3(CH_2)_{10}CH{=}CH(CH_2)_4COOH$	18:1 6c
arachidinsav	$CH_3(CH_2)3(CH2CH{=}CH)_2(CH_2CH{=}CH)_2(CH2)_3COOH$	20:4 5c 8c 11c 14c
ricinusolajsav	$CH_3(CH_2)5CH(OH)CH_2CH{=}CH(CH2)_7COOH$	12-OH 18:1 9c
szterkulinsav	$CH_3(CH_2)_7C{=}C(CH_2)_7COOH$ \ / CH_2	9,10-metilén 18:1 9c
vernolinsav	$CH_3(CH_2)_4CH{-}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH$ \ / O	12,13-epoxi 18:1 9c

Az élővilágban, s így a növényekben is az egyes zsírsavféleségek megléte, elterjedése és megoszlása bizonyos evolúciós sorrendet és helyet tükröz. A szervezetben előforduló lipidek (neutrális lipidek) zsírsavösszetétele, az egyes intermedierek felhalmozódása, a szokásostól eltérő izomerek szintézise, a telítetlenség mértéke és az adott faj, vagy magasabb rendszertani egység zsírsav szintetizáló kapacitása alapján fejlődési sorok állíthatók fel. Így az egyes fajok vagy nagyobb rendszertani kategóriák „zsírsav-spektrumának" ismerete taxonómiai jelentőséggel is bírhat.

5.2.2. A zsírsavak bioszintézise

Az utóbbi évek eredményei bebizonyították, hogy a növényekben, eltérően a prokariótáktól és az állati szervezetektől, a zsírsavak „*de novo*" szintézise organellum-kötött. Kloroplasztiszokban, leukoplasztiszokban, csírázó magvak proplasztiszaiban, illetve sziromlevelek kromoplasztiszaiban folyik. Újabb adatok utalnak arra, hogy ez a folyamat a növényi mitokondriumokban is lehetséges.

5.2.2.1. Az acetil-CoA eredete

A zsírsavszintézis alapvető szubsztrátja az acetil-CoA. Származhat a kloroplasztisz glikolitikus aktivitásából, amelynek során a képződő piroszőlősavból azt a saját piroszőlősav-dehidrogenáz (PDC) enzimje állítja elő. De az így előállított acetil-CoA mennyisége messze nem fedezi a zsírsavszintézis igényeit. Ráadásul a kloroplasztisz eredetű acetil-CoA főként az ott folyó terpenoid bioszintézishez használódik fel. Ezért a zsírsavszintézishez mindenképpen külső szénforrásra van szükség.

A glikolízisben képződő piroszőlősav a mitokondriumban oxidatív dekarboxiláción megy keresztül a PDC enzimkomplex segítségével, miközben acetil-CoA és CO_2 keletkezik. Mivel a PDC többszintű szabályozás alatt áll, ezért kulcsfontosságú szerepet játszik a zsírsavszintézis sebességének meghatározásában is. Az acetil-CoA egy acetil-CoA-hidrolázzal szabad acetát formájában könnyen kijut a mitokondriumból. De mivel számára a kloroplasztisz borító membránja nem átjárható, a hatékony acetát transzportot egy acetil-CoA-szintetáz rendszer biztosítja. A kloroplasztiszok külső acetil forrását igazolja, hogy jelölt exogén acetát *de novo* szintetizált zsírsavakban is megjelenik.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

5.2.2.2. A zsírsavszintézis folyamata

A zsírsavak bioszintézise két, jól elkülöníthető lépésből áll. 1. Az acetil-CoA-karboxiláz (ACC) enzimkomplex által katalizált acetil-CoA → malonil-CoA átalakulás. 2. A zsírsav-szintetáz (FAS - **F**atty **A**cid **S**ynthase) multienzimkomplex közreműködésével lejátszódó malonil-CoA + acetil-CoA → palmitinsav → sztearinsav folyamatsor.

5.2.2.2.1. A malonil-CoA képződése

Az ACC enzimkomplexnek két típusa ismeretes. A prokariótáknál a „Type II" heteromer enzimkomplex, több katalitikus aktivitással rendelkező, disszociábilis polipeptidláncokból épül fel: a biotin-karboxil-szállító-protein (BCCP), a biotin karboxiláz és a két BCCP:acetil-CoA transzkarboxiláz (többalegységes enzim). Az állati sejtben a „Type I" enzimkomplexet egy polipeptidlánc alkotja, amelyen ugyanolyan funkcionális domének vannak, mint a „Type II"-n és polimerként aktív (multifunkcionális enzim). A növényeknél mind a két típus előfordul. A prokarióta típusút a spenót, az eukarióta típusúhoz hasonlót a búza és az árpa kloroplasztiszaiból izolálták.

A malonil-CoA szintézisének reverzibilis lépései: a biotinált protein ATP-függő karboxilációja, majd a karboxil csoport transzferje az enzimről az acetil-CoA-ra:

$ATP + HCO_3^- + BCCP \rightarrow CO_2\text{-}BCCP + ADP + P_i$

Az enzim a biotin-karboxiláz és a lépés Mg^{2+} iont igényel

$CO_2\text{-}BCCP + acetil\text{-}CoA \rightarrow malonil\text{-}CoA + BCCP$

Az enzim a transzkarboxiláz.

Ez az enzimkomplex is többszintű szabályozás alatt áll. Aktivitását a K^+ és a Mg^{2+} ionok koncentrációjának és a pH értékének növekedése, az ATP/ADP arány emelkedése, és a fény jelenléte pozitívan, míg a végtermék, a zsírsav-acil-ACP, negatívan befolyásolja.

5.2.2.2.2. A palmitinsav és a sztearinsav szintézise

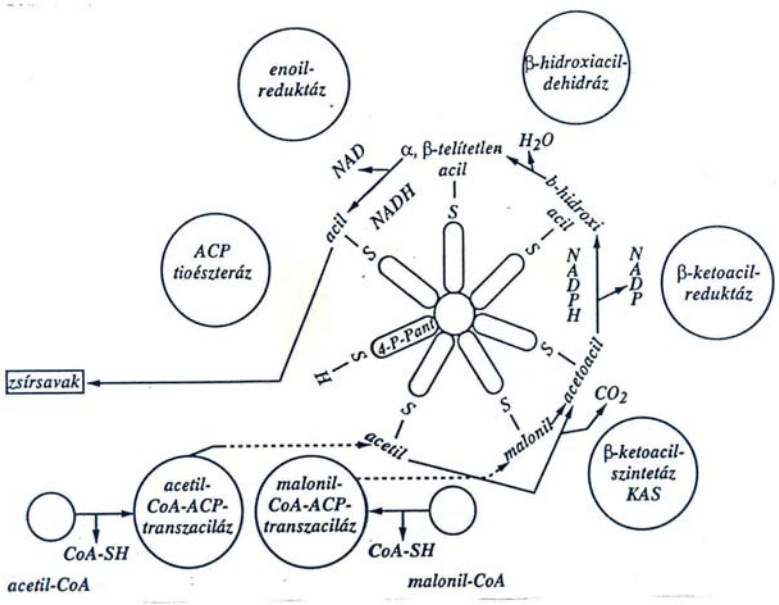
A közepes és hosszabb szénláncú zsírsavak szintézisét a **FAS** végzi, amelynek alapvetően két típusa ismeretes, hasonlóan az ACC-hoz. Az élesztőben és az állati szervezetekben két polifunkciós polipeptidláncon helyezkednek el a katalitikus helyek („Type I"), míg a prokarióta „Type II" típusú enzimkomplex különálló polipeptid láncokból szerveződik. A növényi zsírsav-szintetáz a II típussal mutat hasonlóságot. A zsírsavszintetáz minden komponense a magban kódolt, szignál peptiddel szintetizálódik, amely lehetővé teszi, hogy a plasztiszok borító membránján átjusson. A FAS enzim és az általa katalizált folyamat modelljét az **5.1. ábra** szemlélteti.

A zsírsavszintézis során a szubsztrátok, az acetil- és a malonil-csoportok, egy kis móltömegű (9-11 kDa) SH-proteinnel (acyl-carrier-protein, **ACP**) lépnek kapcsolatba, amelyeket először *E. coli*-ból mutattak ki. Az ACP-k a zsírsavláncok szállításában, illetve az acillláncoknak az enzimhez való kapcsolásában játszanak szerepet. Ennek során az acillánc az enzim 4'-foszfopantetén prosztetikus csoportjának –SH oldalláncához kapcsolódik és a szintézis során végig ehhez kötve marad.

A zsírsavszintézis során az alábbi lépések játszódnak le. Először mind az acetil-CoA, mind a malonil-CoA acilálódik ACP-el, acetil-CoA-, illetve malonil-CoA:ACP transzacilázzal.

A tényleges lánchosszabító szintézist a FAS **KAS III** (β-**k**eto**a**cil-ACP **s**zintetáz) aktivitása kezdi (ezt a KAS típust fedezték fel legkésőbben), és a képződő primer kondenzációs termék, az acetoacil-ACP, amely egy cikluson keresztül tovább haladva redukálódik, dehidratálódik, majd ismét redukálódik és egy olyan új, primer zsírsav-acil-ACP képződik, amely már két szénatommal hosszabb, mint a kiindulási szubsztrát. A KAS III a kondenzációs reakcióban elsősorban acetil-CoA molekulákat fogad el.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.1. ábra A növényi zsírsavszintetáz (**FAS**) modellje

malonil-S-ACP+acetil-S-ACP → aceto-acetil-S-ACP + CO_2 +ACP

az enzim a ß-ketoacil-ACP-szintetáz III

aceto-acetil-S-ACP → ß-hidroxi-butiril-S-ACP

az enzim a NADPH-ß-ketoacil:ACP-reduktáz

ß-hidroxi-butiril-S-ACP → krotonil-S-ACP + H_2O

az enzim a ß-hidroxiacil:ACP-dehidratáz

krotonil-S-ACP → butiril-S-ACP

az enzim a NADPH-enol-ACP-reduktáz

A primer zsírsav-acil-ACP ismételten belép egy lánchosszabító (elongációs) ciklusba, ahol a további kondenzációt egy másik FAS izomer, a **KAS I** aktivitása katalizálja, most már malonil-ACP-kel mindaddig, míg palmitil-ACP jön létre. Az utolsó kondenzációs ciklust egy újabb FAS izoform, a **KAS II** aktivitása vezeti be és a termék sztearil-ACP.

A képződött zsírsav acillláncok milyensége és aránya több egymás melletti, illetve egymást követő reakciótól függ. A mindenkori palmitil-, illetve sztearil-ACP arányt a KAS II aktivitása befolyásolja. E két képződő termékből **tioészterázok** szabad zsírsavat produkálhatnak, illetve **acil-transzferázok** közreműködésével a termékek közvetlenül lipidek szintézisére használódnak fel. Ugyanakkor bármilyen további felhasználás előtt a telített 18 szénatomos termék, a sztearinsav, **Δ9-deszaturázok** segítségével egyszeresen telítetlen zsírsavvá, olajsavvá alakulhat át.

A zsírsavszintézis energetikai (ATP) igényét a kloroplasztiszokban alapvetően a fotoszintézis biztosítja. Más plasztiszokban lehetőség van az ATP importjára a citoszólból, ADP/ATP transzportereken keresztül. A redukciós lépésekhez szükséges NAD(P)H-t a kloroplasztiszokban a fotoszintézis vagy az oxidatív pentózfoszfát-ciklus (OPP-ciklus) adja. A citoszólban a zsírsavak további lánchosszabbító folyamataihoz (elongáció) a redukáló ekvivalenst az OPP-ciklus vagy a mitokondriális NADH import szolgáltatja.

5.2.2.2.3. Telítetlen zsírsavak szintézise

Az olajsav bioszintézise

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Magasabb rendű növényekben az aerób mechanizmus redukáló rendszert (NADPH vagy NADH) és elektronszállítót igényel, amely növényeknél a kloroplasztiszban ferredoxin, állati szervezetekben citokróm-b_5 lehet. Az olajsav előállításában közreműködő deszaturáz enzim teremti meg a kapcsolatot az elektrontranszport lánc (NADPH, NADPH-ferredoxin oxido-reduktáz), a szubsztrát (sztearil-ACP) és a molekuláris oxigén között, miközben kialakítja a 9. és 10. szénatomok közötti kettős kötést. A palmitil-ACP nem szubsztrátja az enzimnek.

A linolsav és a linolénsav bioszintézise

E két fontos membránalkotó telítetlen zsírsav előállítása, nevezetesen az olajsav→linolsav, illetve a linolsav→linolénsav deszaturációja már az ER-ban történik, ahol foszfolipidek, elsősorban PC (foszfatidilkolin) és PE (foszfatidiletanolamin), kisebb részben PS (foszfatidilszerin) és PI (foszfatidiletanolamin) képződik. A második kettős kötés kialakítását végző enzim, a ***Δ*12-deszaturáz** szubsztrátja a már kész foszfolipid molekula. A harmadik kettős kötés kialakítása szintén glicerid formájában történik, részben az ER-ban (nem fotoszintetizáló sejt), illetve már ismét a kloroplasztisz borítómembránjában, ahol a ***Δ*15-deszaturáz** szubsztrátja a monogalaktozil-diacilglicerid (MGDG), vagy a PC. Így a legfontosabb többszörösen telítetlen zsírsavak szintézisében a (kloro)plasztisz és az ER egyaránt részt vesz.

Ezek után a sejt egyes membránjainak felépítéséhez a szükséges lipid, illetve zsírsav komponensek sorozatos lipid átépülési és zsírsav kicserélődési reakciókon keresztül állnak rendelkezésre.

5.2.2.2.4. A zsírsavszintézis terminációja

A magasabb rendű növényekben a leggyakrabban előforduló zsírsavak 16-18 szénatom számúak. Ugyanakkor rövidebb és jóval hosszabb szénláncúak is megtalálhatók. Kell lennie olyan mechanizmus(ok)nak, amely(ek) a kívánt lánchosszúságot biztosítják. Többféle ilyen folyamat vált ismertté:

- maguk a KAS enzimek is szabályozzák az elérhető lánchosszúságot a szubsztrátspecifitásuk révén. Ez teszi lehetővé, hogy az ER-ban igen hosszú szénláncú zsírsavak, például C_{40}-C_{60} tagszámú viasz komponensek, illetve a magvakban a szokásosnál rövidebbek is képződhessenek;

- a szintézis helyén specifikus acil-ACP-hidrolázok (tioészterázok) találhatók, amelyek egy adott lánchossz elérése után szabad zsírsavat produkálnak;

- amikor a szintézis és az akkumuláció más helyen van, az enzimek specifitása biztosítja a kívánt lánchosszat. Például a ricinus magjának proplasztiszaiban sztearinsav → olajsav átalakulás után a szabad acillánc az ER-be transzportálódik. Itt CoA-tioészterré alakulva, hidroxiláció után a megfelelő akceptor, a PC segítségével a felhalmozás helyére jut vissza és triacil-gliceriddé (TAG-é) épül fel;

- kimutatták olyan specifikus acil-ACP-transzferázok jelenlétét, amelyek csak bizonyos acilláncokat építenek be a glicerin molekulájába, lásd prokarióta lipidszintézis a kloroplasztiszban;

- Minden elongáz(zsírsavszintetáz) enzimkomplex, akár az ER-ban, akár a Golgi-ban lokalizálódik, kondenzáló, reduktáz és dehidráz aktivitással rendelkezik, hasonlóan a *de novo* zsírsavszintézisben résztvevő FAS enzimekhez.

5.2.2.2.5. A zsírsavszintézis szabályozása

Minden sejt a növényben szintetizál zsírsavakat és épít lipideket, hogy biztosítsa az alapanyagokat elsősorban a membránrendszerének felépítéséhez. Ez az igény persze függ a fejlődési állapottól, a növekedés ütemétől, a napszaktól, a környezeti tényezők állandóan változó hatásaitól és egyéb, az adott sejtre jellemző speciális követelményektől. Néhány sejttípusnál a zsírsavszintézisre való igény erőteljesen fokozott. Különösen igaz ez az olajokat raktározó szövetek sejtjei esetében, ahol a raktározott TAG-ek mennyisége akár a sejt 60%-át is kiteheti, vagy az epikutikuláris sejteknél, amelyek jelentős mennyiségben állítanak elő monomereket a kutikuláris rétegek (viasz, kutin, szuberin) szintéziséhez. Lényeges kérdés, hogy a sejt zsírsav szintetizáló rendszere hogyan tud megfelelni ezeknek a különböző és változó igényeknek. Milyen tényezők, milyen pontokon szabályozzák, hogy mennyi szén áramolhat keresztül a zsírsavszintézis folyamatán.

Nyilvánvaló, hogy a zsírsav felhasználás mértéke szabhatja meg a szintézis sebességét, de mivel az összetett lipidek szintézise jelentős mértékben a citoplazmában, továbbá beépülésük a sejt legkülönbözőbb térrészeiben lévő membránokba történik, a szignál(lok)nak ezekről a helyekről kell származniuk. Úgy tűnik, hogy a membránlipidek

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

szintézisét a membránokban lévő fehérjék (fehérjekomplexek) mennyisége és minősége, beépülése és lebomlása befolyásolja. Bármilyen membránfehérje expressziójának fokozása nem vezet az érintett membránban a fehérje/lipid arány megváltozásához, vagyis ez az arány valóban szabályozott.

5.2.3. A lipidszintézis prokarióta és eukarióta útja

A *de novo* szintetizálódott zsírsavak egy része a plasztiszokban a saját (membrán)lipidek építésére fordítódhat. A kloroplasztisz sztrómájában lévő acil-transzferázok jellegzetes utat nyitnak meg e lipidek előállításához. Ezen az úton palmitinsav lép be a G-3-P 2. szénatomjára, amelyet egy, a kloroplasztisz sztrómájában lévő szolubilis acil-transzferáz, az acil-ACP:glicerin-3-P-aciltranszferáz (GPAT) katalizál és lizofoszfatidsav jön létre (LPA). A G-3-P 1. szénatomjához általában olajsav kapcsolódik és a termék így már foszfatidsav (PA), amely lépést a borítómembrán-kötött acil-ACP:-1-lizofoszfatidsav-acil-transzferáz (LPAAT) katalizálja. Ebből a központi metabolitból, a PA-ból, foszfatidilglicerin (PG), illetve mono-, és digalaktozil-diacilgliceridek (MGDG, DGDG), továbbá szulfolipidek (SQDG) jöhetnek létre úgy, hogy a PA-ból először egy PA-foszfatáz alakít ki diacilgliceridet (DAG-pool), amelyhez egy újabb glicerin molekula, illetve galaktozil-, vagy szulfokinovózil-csoport kapcsolódhat. Az így képződött lipidek nem hagyják el a kloroplasztiszt kompartmentet, és a tilakoid membránok részévé válnak. Ez a lipidszintézis **prokarióta út**ja, és a későbbi deszaturációra utalva, 16:3-as lipideknek, illetve növényeknek nevezik őket.

Ugyanakkor a képződött acil-ACP-ket tioészterázok bontják szabad zsírsavra és ACP-re. A szabad zsírsavak a borítómembránban külső oldalán található acil-CoA szintetáz közreműködésével, CoA-hoz kapcsolódva hagyják el a kloroplasztiszt és bekapcsolódnak az ER-ban folyó lipidszintézisbe, ahol a G-3-P 1. szénatomjához általában 18:1, vagy 16:0 zsírsavak, a 2. szénatomjához 18:1 zsírsav kapcsolódik. Az itt zajló lipidszintézis képviseli a lipidszintézis **eukarióta út**ját és az így készült lipidek un. 18:3-as típusúak.

A két bioszintetikus út a kloroplasztiszban, közvetlenül az GPAT és az ACP-tioészterázok relatív aktivitásától függően szabályozódik, ez a két enzim van kompetícióban a zsírsavszintézis termékeiért. A GPAT aktivitás a prokarióta út, míg a tioészteráz aktivitás az eukarióta út felé vezet.

Számos zárvatermő családba tartozó fajt 18:3-as növényeknek neveznek, mert a kloroplasztiszaik lipidjei túlnyomó részben eukarióta típusúak. A prokarióta úton csak a kloroplasztiszaik PG-je készül el. Az ősibb zárvatermő családok tagjaiban, amelyek 16:3-as növények, a prokarióta úton jön létre a PG, a galaktolipidek és a szulfolidpidek többsége is.

5.3. Neutrális lipidek

5.3.1. A neutrális lipidek felépítése

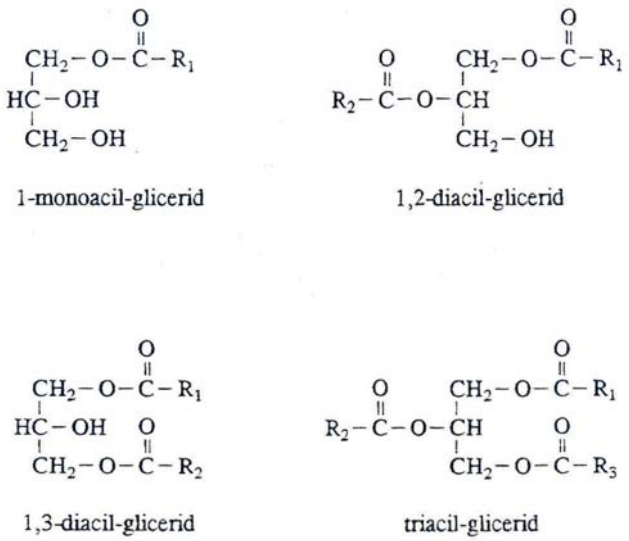
A három fő raktározott tápanyag, a szénhidrát, a fehérje és a zsírok, olajok közül ez utóbbiak kétszer annyi energiát konzerválnak. A raktározott zsírok, olajok neutrális lipidek, triacilgliceridek (TAG), amelyek általánosan elterjedtek az egész növényvilágban. A növényvilágon kívül tartaléktápanyagot képeznek az állati szervezetekben és a gombákban is, de hiányoznak a baktériumokban.

A magasabb rendű növényekben a neutrális lipidek, raktározott tápanyagként elsősorban olajos magvakban halmozódnak föl, mint például a szójában (*Glycine hispida*), földimogyoróban (*Arachis hypogaea*), kókuszban (*Cocos nucifera*), napraforgóban (*Helianthus annuus*), olajpálmában (*Elaeis Guineensis*), repcében (*Brassica napus*), gyapotban (*Gossypium hirsutum*), olivában (*Olea sativa*), lenben (*Linum usitatissimum*), szezámban (*Sesame indicum*) és a ricinusban (*Ricinus communis*). Kivétel a jojoba, ahol a raktározott olaj viaszészter. A TAG-ot raktározó szövetek sejtjein kívül a TAG-ek minden sejtben megtalálhatók változó, de alapvetően kis mennyiségben.

A felhalmozódó olaj a termés különböző részeiben található fajtól függően, például a szója és a pálma endospermiumában vagy az avokadó mezokarpiumában. Vannak olyan magvak is, ahol a raktározott tápanyag elsősorban szénhidrát (keményítő), de mellette kisebb mennyiségben a neutrális lipidek is megtalálhatók (bab, borsó, gabonafélék).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A neutrális lipidek a glicerin észterei, ahol a glicerin három hidroxil csoportját zsírsav (acil) láncok észteresítik (**5.2. ábra**) A mono-, és diacilgliceridek a bioszintézis, illetve a lebontás köztes termékei, nem halmozódnak fel a sejtben. Az észteresítő acillláncok között néhányan jelentős arányban fordulnak elő, mint pl. a palmitin-, sztearin-, olaj-, linol-, és linolénsav. De ezeken túl igen nagy számban más, főként különös zsírsavak is kimutathatók, általában sokkal szerényebb mennyiségben. Ugyanakkor egyes magvakban, nagyobb mennyiségben, minor zsírsavak is megtalálhatók. Az *Araceae*, a *Lauraceae*, a *Lythraceae* és az *Ulmaceae* családoknál gyakran előfordulnak telített C_8 – C_{14} zsírsavak, a *Brassicaceae*-nál C_{20} – C_{24} zsírsavak, mint pl. az erucinsav (*cisz*-13-22:1) a repcében, de számos olyan zsírsav is van, amelyik láncában egyéb funkciós csoportok vannak, mint a ricinusban az OH-csoport (*cisz*-9,12-OH-18:1), máshol metilcsoport, epoxigyűrű, vagy gyűrűs szerkezet, mint a ciklopropán zsírsavakban, a *Malvaceae* fajaiban.



5.2. ábra. Neutrális lipidek szerkezete ($R_{1\text{-}3}$ – acillláncok)

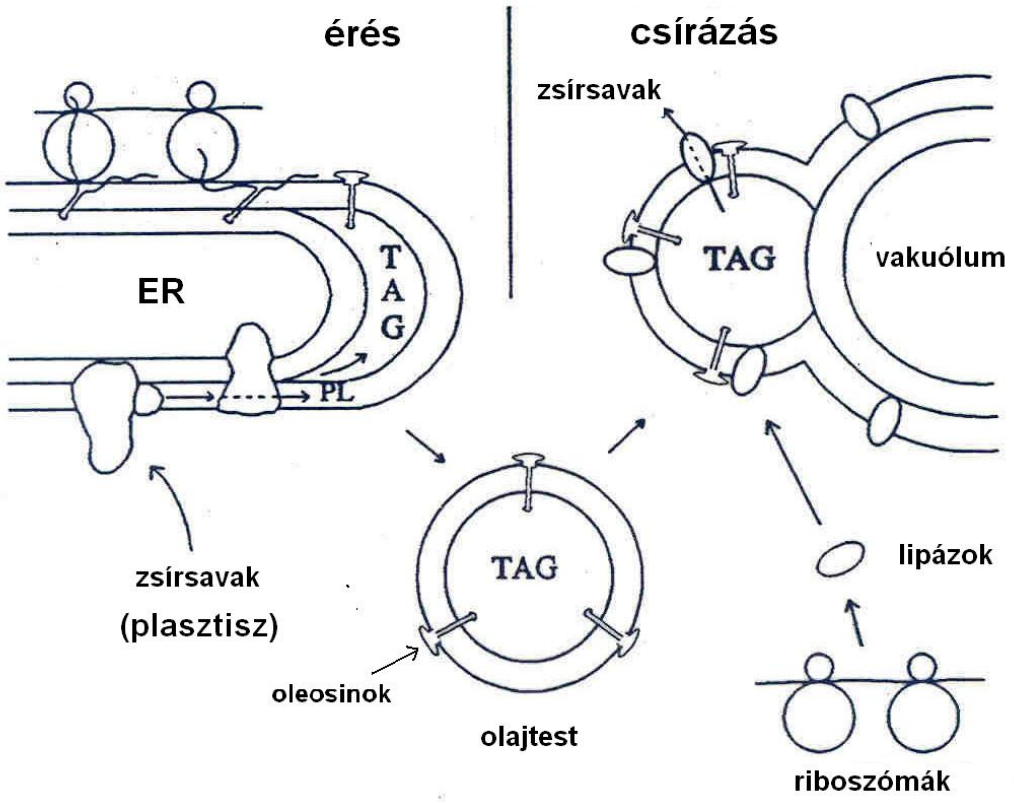
A magvakban a TAG kis, szubcelluláris cseppekben különül el, eltérően a nagy intracelluláris olaj globulusoktól, amelyek például az oliva gyümölcsének mezokarpiumában, vagy az olajpálma és az avokádó termésében találhatók, de amelyek egyébként nem mobilizálódnak. A sejten belüli vízoldhatatlan TAG tárolásához speciális struktúra szükséges. Ezek a diszkrét partikulumok az **olajtestek**, amelyeket az irodalomban korábban oleoszómáknak, szferoszómáknak, vagy lipidtesteknek is neveztek.

5.3.2. Olajtestek

Az olajtestek 0.2–2,5 μm átmérőjű sejtorganellumok. Az ER vezikularizációjából, lefűződéséből származnak. Az ER-ban szintetizálódó TAG-ek az ER kettős membránja közötti térbe szekvesztrálódnak, halmozódnak fel és egy kritikus méret elérése után lefűződnek. Az így létrejött sejtorganellumot egyrétegű (fél-egység) foszfolipid membrán veszi körül. Az olajtestek foszfolipid membránjába sajátos struktúrájú fehérjék, az **oleosinok** épülnek be, amelyek az ER külső membránjának felszínén szintetizálódnak és válnak a lefűződő olajtest membrán integráns részévé.

Az oleosinok alkalikus, kis molekulatömegű (15-26 kDa) fehérjék, amelyeknek több izoformja fordul elő. Alapvető feladatuk kettős. Egyrészt stabilizálják az olajtesteket és megvédik a koagulációtól, másrészt kötődési felületet biztosítanak a lipolitikus enzimek, a lipázok számára, amelyek a csírázás kezdetétől bontják a TAG-eket. Az olajtestek szintézisének és degradációjának vázlatos menetét az **5.3. ábra** szemlélteti.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.3. ábra Az olajtestek szintézisének és degradációjának modellje. (PL – foszfolipid, ER – endoplazmatikus retikulum, TAG – triacilglicerid)

A mag érése során létrejövő olajtestek a csírázás megindulásakor kezdenek degradálódni (**5.3. ábra**), amelyben a lipidbontó „valódi" lipázoknak van szerepe. Az olajtestek TAG-jának lebontásához a lipázok specifikusan kötődnek az olajtesthez. A kötődési pont feltehetően az oleosin molekulán van. A lebontott TAG-ból származó acilláncok vagy szállító molekulák közreműködésével kerülnek a glioxiszómákba, vagy ami sokkal valószínűbb, hogy az olajtestek és a glioxiszómák között fizikai kontaktus jön létre.

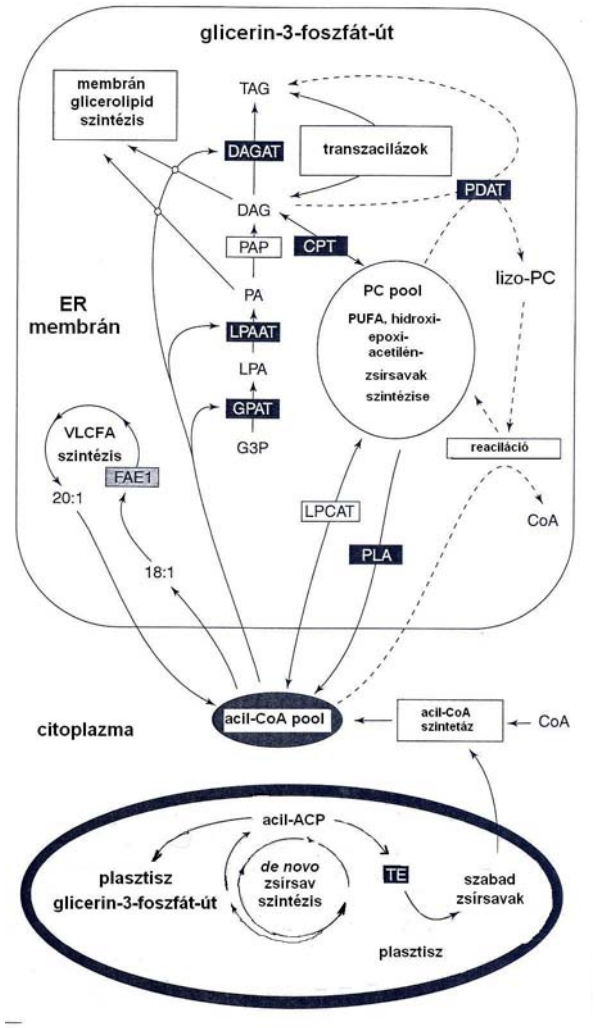
5.3.3. Neutrális lipidek szintézise

A neutrális lipidek szintézisének színtere az ER, minden sejtben folyik, változó intenzitással. A folyamatot **Kennedy-** vagy **glicerin-3-foszfát-út**nak (G-3-P-út) nevezik (**5.4. ábra)**.

A G-3-P származhat a glikolízisből vagy az OPP-ciklusból, de képződhet a glicerin direkt foszforilációjával is glicerin-kinázzal. Az acil csoportokat aciltranszferázok kötik fel. A G-3-P acilálását a GPAT végzi és LPA képződik. Az LPAAT köti fel a glicerin 2. OH-jára a következő acilláncot és a termék PA. A PA defoszforilálását a foszfatidsav foszforiláz (PAP) végzi és DAG képződik. A DAG harmadszor is acilálódhat a diacil-glicerinaciltranszferázzal (DAGAT) és TAG jön létre. A DAGAT az egyedüli specifikus enzim a G-3-P-úton, amely a TAG képződése felé vezet. A szintézis központi fontosságú vegyületei a LPA és a PA, mivel ezek a foszfolipid szintézis intermedierjei is. Így a lipidszintézis egyaránt folyhat a neutrális lipidek, illetve a foszfolipidek felé. Mi több, kimutatható, hogy a DAG-ek, egy kitérőt téve, először nagyobb részben PC-vé, kisebb mértékben PE-vé alakulnak. Ezeken a foszfolipideken deszaturáció és/vagy a zsírsav láncok módosítása következik be, mielőtt azok újra visszatérnének a TAG szintézisbe. Ezen az úton történik meg a majdani neutrális lipidek sajátos zsírsavösszetételének a kialakítása. Ekkor a DAG PC-á alakulhat a CDP-kolin-diacilglicerid:kolin foszfotranszferázzal (CPT), de a foszfolipázok acilláncot is levehetnek róluk, amelyek visszatérnek az acil-CoA pool-ba. Ugyanakkor a PC zsírsava a 2. pozícióban kicserélődhet olyan zsírsavval, ami a fenti acil-CoA pool-ból érkezik, az acil-CoA-lizofoszfatidilkolin aciltranszferáz (LPCAT) közreműködésével. Az LPCAT reverzibilis működésű, levesz és feltesz acilláncot PC-ról, illetve lizofoszfatidil-kolinra az acil-pool-ba, illetve az acil-pool-ból és így mozgat a PC-pool és az acil-pool között. Megtörténhet a zsírsavak közvetlen transzferja PC-ról DAG-re is és így rögtön TAG képződik, amely folyamatot

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

a foszfolipid diacilglicerid aciltranszferáz katalizál (PDAT). Az egész folyamathoz zsírsav elongációs lépések is tartoznak, amelyek segítségével „nagyon hosszú szénláncú zsírsavak” (VLCFA – very long chain fatty acids) jöhetnek létre.



5.4. ábra A Kennedy- vagy glicerin-3-fosztfát út és kapcsolatai. (CPT – kolin foszfotranszferáz, DAG - diacilglicerid, DAGAT - acil-CoA:*sn*-1,2-diacilglicerin aciltranszferáz, FAE1 – zsírsav elongáz, GPAT - acil-CoA:*sn*-glicerin-3-P aciltranszferáz, LPAAT - – acil-CoA:*sn*-1-acilglicerin-3-P aciltranszferáz, LPA - lizofoszfatidsav, LPCAT – lizofoszfatidil-aciltranszferáz, Lyso-PtdCho – lizofoszfatidil-kolin, PA - foszfatidsav, PAP foszfatidsav foszforiláz- , PDAT – foszfatidil aciltranszferáz, PLA – foszfolipáz A, PtdCho - foszfatidil-kolin- , PUFA – többszörösen telítetlen zsírsav, TE - tioészteráz, VLCFA – nagyon hosszú szénláncú zsírsav).

5.4. Foszfolipidek

5.4.1. A foszfolipidek felépítése

Az itt szereplő vegyületek közös tulajdonsága, hogy a glicerinjük harmadik -OH-ját foszforsav észteresíti, amelyhez változatos szerkezetű, poláros jellegű vegyületek („fej-csoportok”) kapcsolódnak. Két nagy csoportjuk: a foszfatidok és a szfingolipidek. A foszfatidok alapvegyületének a PA tekinthető. A foszfatidok szerkezetét az **5.5. ábra** mutatja.

A ***foszfatidil-kolin*** (PC) a legtöbb növényi szövet, ill. membrán alapvető komponense, a foszfatidsav kolinésztere (lecitinek).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A ***foszfatidil-glicerin*** (PG) a kloroplasztiszok membránjainak egyik fontos alkotója, nagyobb mennyiségben *transz*-Δ3-hexadecénsavat is tartalmaz, amely kizárólag a glicerin 2. -OH-csoportját észteresíti.

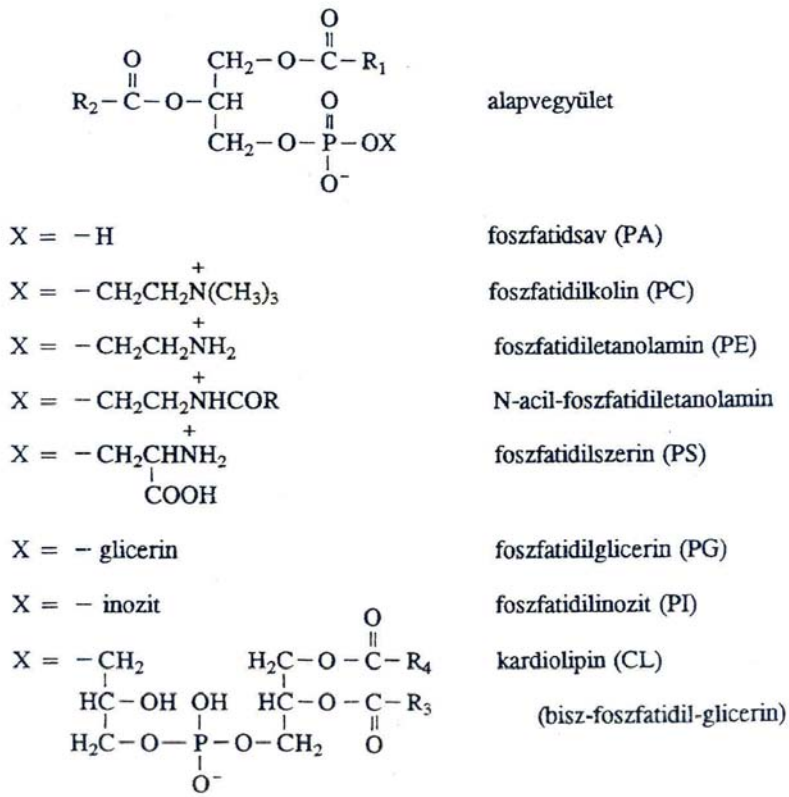
A ***foszfatidil-inozit*** (PI) a legtöbb növényi szövet membránjában előfordul, különösen a plazmamembránban, ahol a PI és foszforilált származékai jelátviteli folyamatokban játszanak szerepet.

A ***foszfatidil-szerin*** (PS) a membránokban általános, de kismennyiségben előforduló komponens. A kloroplasztiszból hiányzik.

A ***foszfatidil-etanolamin*** (PE) a foszfatidsav etanolamin észtere (kefalin). A kloroplasztisz kivételével általánosan fellelhető foszfolipid.

A ***kardiolipin*** (CL), amely bisz-foszfatidil-glicerin, ritkábban előforduló foszfolipid komponens, főként a mitokondriumok belső membránjaiban található. Három glicerin molekulát két foszforsav, foszfodiészter kötéssel kapcsol össze.

A leggyakoribb foszfolipidek a legtöbb membránban előfordulnak, de mennyiségi viszonyaik jellegzetesen eltérnek és eloszlásuk a membránon belül laterális és transzverzális aszimmetriát mutat.



5.5. ábra A foszfatidok elnevezése és szerkezete (R_1 – R_4 = acillláncok)

5.4.2. A foszfolipidek bioszintézise

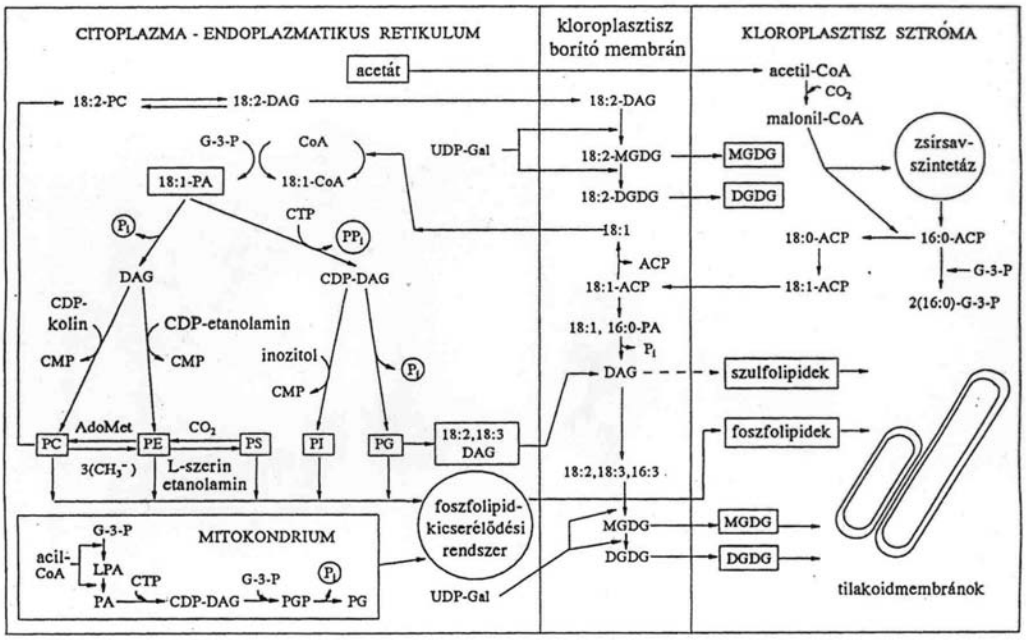
A különböző foszfolipid molekulák jelenléte a membránban befolyásolja annak fizikai-kémiai paramétereit, polaritását, permeabilitását, fluiditását és a membrán-kötött fehérjék aktivitását. Ugyanakkor intermedierként részt vesznek más lipidek (neutrális lipidek, glikolipidek, viaszok, kutin, szuberin) bioszintézisében is, mivel a szintézis utak a közös intermediereken, a LPA-on és a PA-on keresztül átjárhatók. E vegyületcsoportnak nagy változatosságot biztosít a zsírsavláncaik és a poláros fejcsoportjaik sokféle kombinációja.

A foszfolipidek szintézise alapvetően három úton történik:

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

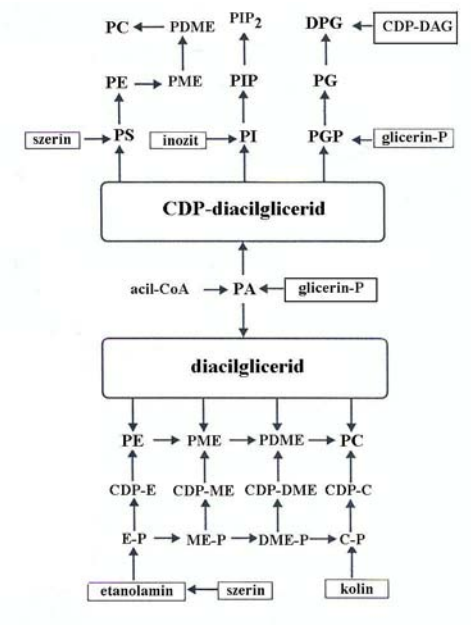
- „*de novo*” szintetizálódnak citidil-difoszfát(CDP)-diacilgliceridekből,
- „*de novo*” szintetizálódnak DAG-ből, és
- foszfolipidek jönnek létre fej-csoport kicserélődési reakciók során más foszfolipidekből.

A foszfolipidek felépítésében több sejtkompartment, az ER, a kloroplasztisz és a mitokondrium vesz részt. A foszfolipidek három szénatomos gerincét a G-3-P szolgáltatja, amely alapvetően a citoplazmában és a kloroplasztiszban áll rendelkezésre. Az acilálás primer termékei a LPA és a PA. Az aciláló donor a kloroplasztiszban acil-ACP, az ER-ban acil-CoA. A poláros fejcsoportok kiépülése alapvetően az ER membránjaiban történik, de a mitokondrium belső membránjaihoz (CL), illetve a kloroplasztisz borító membránjához kötötten is folyhat (PG). A központi metabolitból, a PA-ból DAG-eken, diacil-glicerid-foszfatidsav-foszfatáz közreműködésével, illetve citidilfoszfát(CDP)-diacilgliceridekeresztül, citidilfoszfát-diacilglicerid-foszfatid-transzferáz segítségével történhet a foszfolipidek felépülése. A fenti folyamatokat és azok kompartmentizációját az **5.6. ábra**, a fej-csoport beépülési reakciókat az **5.7. ábra** szemlélteti.



5.6. ábra A foszfolipid bioszintézis sémája és kapcsolata az egyes szubcelluláris kompartmentekkel.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.7. ábra Foszfolipidek fej-csoportok beépülésének egyes lépései. (PDME – foszfatidildimetiletanolamin, PGP – foszfoglicerin-P, PIP – foszfatidilinozitol-P, PIP_2 – foszfatidilinozitol-bisz-P, PME – foszfatidilmetiletanolamin)

5.5. Szfingolipidek - fitoszfingolipidek

5.5.1. A szfingolipidek felépítése

A szfingolipidek olyan foszfolipidek, amelyeknek az alapvázát nem a glicerin, hanem egy 20 C-atomos aminoalkohol, a szfingozin alkotja (**5.8. ábra**). Hosszú ideig úgy tűnt, hogy ezek a vegyületek csak az állati szervezetben fordulnak elő, majd növényi szövetekben Carter és mtsi az 50-es években írták le először. Eddig több mint 60 vegyületet azonosítottak.

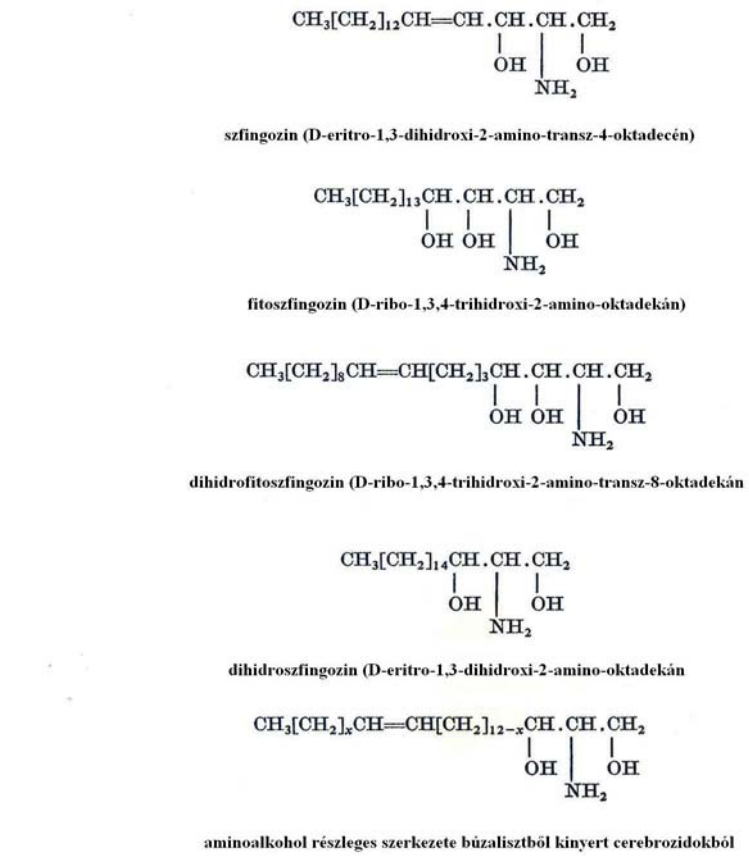
A leggyakrabban előforduló szfingolipidek a glukozilkeramidok (glukocerebrozidok), amelyekben alapvetően 4 féle aminoalkohol fordul elő: fitoszfingozin, a transz-8 telítetlen analógja a dehidrofitoszfingozin, a szfinganin és az egyszeresen telítetlen dihidroszfingozin, a szfinganin (**5.8. ábra**).

A glukozilkeramidok (cerebrozidok) és származékaik a növényi szövetek lipidtartalmának csak >5%-át adják. Ezen belül jelentősebb mennyiségben fordulnak elő a plazmamembránban és a tonoplasztban. Egy glukozilkeramid szerkezetét az **5.9. ábra** mutatja.

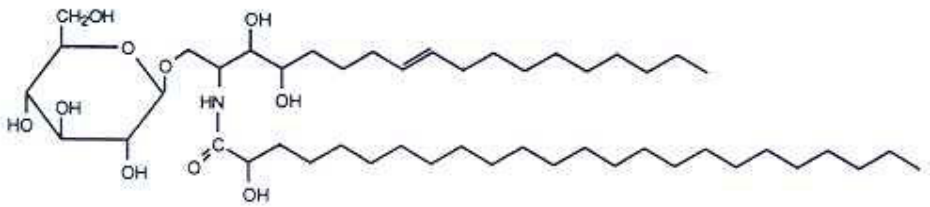
A szfingolipidek általános felépítésében az aminocsoporthoz amid kötéssel zsírsav lánc és az alapváz 1-es pozíciójához glikozidos kötéssel cukorkomponens vagy egyéb poláros csoport (pl. kolin-P) kapcsolódik. Az észteresítő zsírsavak leggyakrabban C_{16}-C_{24}-es láncok. A zsírsavak szinte kizárólag 2-hidroxi-zsírsavak, amelyek szénatom számban, a telítetlenség mértékében, a telítetlen kötés poziciójában és sztereokémiájában különböznek. A szénhidrát komponens növényekben majdnem mindig glukóz, ami a lánc C_1 OH-jához, glikozidos kötéssel kapcsolódik.

Modellrendszerekben igazolták, hogy a glukozilkeramidok és származékaik növelik a membránok stabilitását és csökkentik az ionpermeabilitását azáltal, hogy intra- és intermolekuláris H-híd kötések jönnek létre a keramid molekula amid és hidroxil csoportjai között. Összefüggés mutatható ki a membránok hideg-, fagy akklimatizációja, érzékenysége és a szfingolipid tartalma között. Irodalmi adatok vannak arra vonatkozóan, hogy a szfingolipidek részei a sejt felismerési és szignál transzdukciós rendszerének. Ez a funkciójuk állati sejtben sokkal jobban ismert, mint növényi sejtben.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

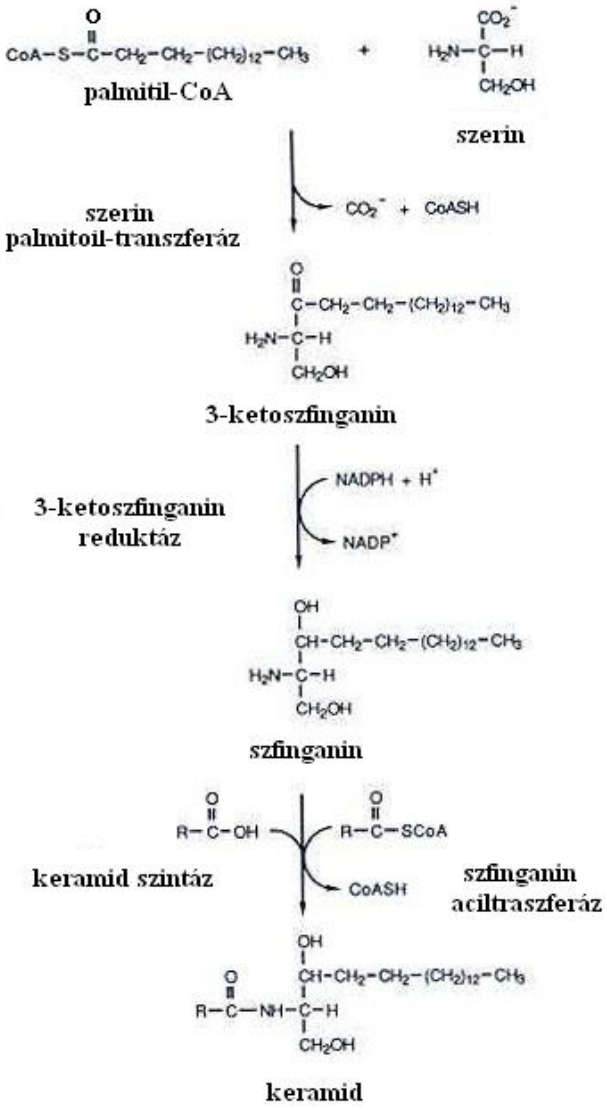


5.8. ábra A leggyakrabban előforduló szfingozinok szerkezete



5.9. ábra 4-hidroxi-8-szfingenint és 2-hidroxilignocerint (cerebroninsav) tartalmazó glukozilkeramid molekula szerkezete

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.10. ábra A keramid szintézis lépései

5.5.2. A szfingolipidek szintézise

A keramid szintézis alapvető az összes komplex szfingolipid szintézisében, mivel a keramid struktúra olyan alapvető komponense az összes szfingolipidnek, ahogy a DAG a glicerolipideknek. A komplex szfingolipidek bioszintetikus útja a szfinganin szintézissel kezdődik, amikor malonil-CoA kondenzál szerinnel. A képződött 3-ketoszfingozin szfinganinná redukálódik (NADPH). A keramid szintézis során amid kötés alakul ki a zsírsav és az alapláncú, a szfinganin között. A zsírsav donor lehet szabad, vagy aktivált (acil-CoA) zsírsavlánc (**5.10. ábra**). A továbbiakban a keramid, mint általános prekurzor szerepel a komplex szfingolipidek szintézise felé. A növényekben a továbbalakulás főként a glukozilkeramidok irányába megy.

5.5.3. Fitoszfingolipidek – komplex szfingolipidek

1958-ba írtak le olyan komplex, foszfortartalmú glikolipidet –sorozatos lebontási kísérletek eredményeképpen–, amely egy szfingozin alapláncból állt és inozitot is tartalmazott. Ezeket a komplex vegyületeket fitoglikolipideknek nevezték el. Az alapváz keramid, amelyben a zsírsavak majdnem kizárólag telített, hidroxilált zsírsavak. Az alapvázhoz foszfodiészter kötéssel egy oligoszacharid rész kapcsolódik, amely három molekulából áll – inozitból, hexuronsavból és hexózaminból. Ehhez még további cukor molekulák épülhetnek, pl. mannóz, galaktóz, arabinóz, néhány esetben fukóz.

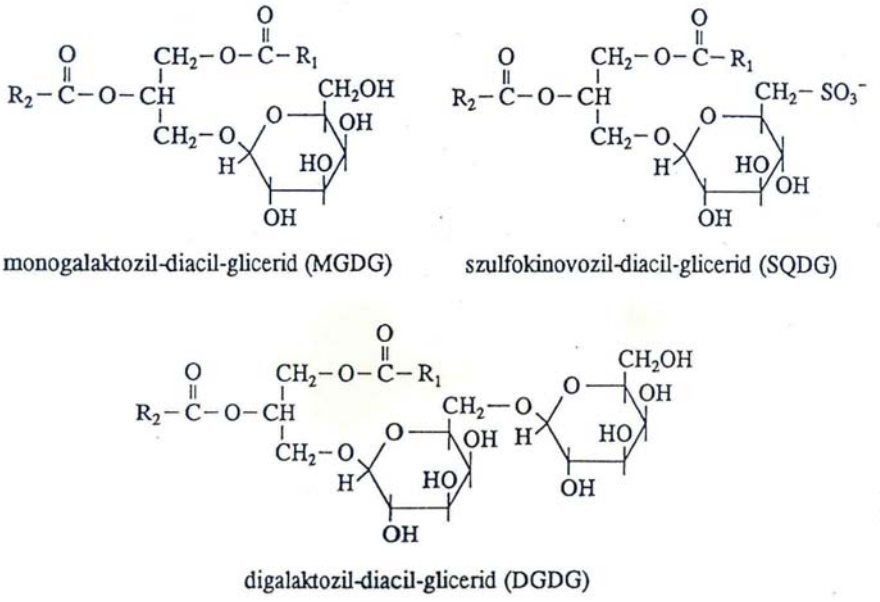
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

5.6. Glikolipidek

5.6.1. A glikolipidek szerkezete

A galaktolipidek és a szulfolipidek jellegzetesen növényi membránlipidek, amelyek általánosan előfordulnak a cianobaktériumoktól a magasabb rendű növényekig egyaránt. A gliko(galakto)lipidek állati szervezetekben alig fordulnak elő, kivéve a központi- és perifériás idegrendszert. A galaktolipidek glikozil-digliceridek, amelyekben a glicerin első és második –OH-jához észterkötéssel zsírsavak, a harmadik –OH-jához glikozidos kötésben cukor(galaktóz)-származékok kapcsolódnak. Leggyakrabban előforduló képviselőik az MGDG és a DGDG. A főbb glikolipidek, valamint a kéntartalmú glikolipid szerkezetét az **5.11. ábra** mutatja.

A galaktolipidek nagyobb mennyiségben a fotoszintetizáló szövetekben találhatók. A tilakoidokban és a belső borító membránban az MGDG + DGDG 49% és 30%-os megoszlást mutat. A kloroplasztiszok tilakoid membránjaiban és a borítómembránban igen magas a többszörösen telítetlen zsírsavak aránya. Mivel a galaktolipidek a kloroplasztisz membránlipidjeinek jelentős %-át alkotják, szerepük alapvető a jellegzetes membránstruktúra-, és funkció kialakításában és fenntartásában. Galaktolipidek előfordulnak a plazmamembránban is, sőt foszfát-hiányos körülmények között, a (kloro)plasztiszból transzportálva más membránokban lévő foszfolipideket is helyettesíthetnek.



5.11. ábra A főbb glikolipidek szerkezete

A kéntartalmú lipidek két fő típusa található meg fotoszintetizáló szervezetekben. Az *Ochromonas* fajok és néhány alga alkilszulfátokat és kloroalkilszulfátokat tartalmaz, míg az összes többi zöld növényben a 1',2'-di-O-acil-3'-O-(6-deoxi-6-szulfo-α-D-glükopiranozil)-sn-glicerin (SQDG) fordul elő (**5.11. ábra**). Az SQDG elsősorban a tilakoid membránokban található, és közel 80%-ban telített zsírsavakat tartalmaz

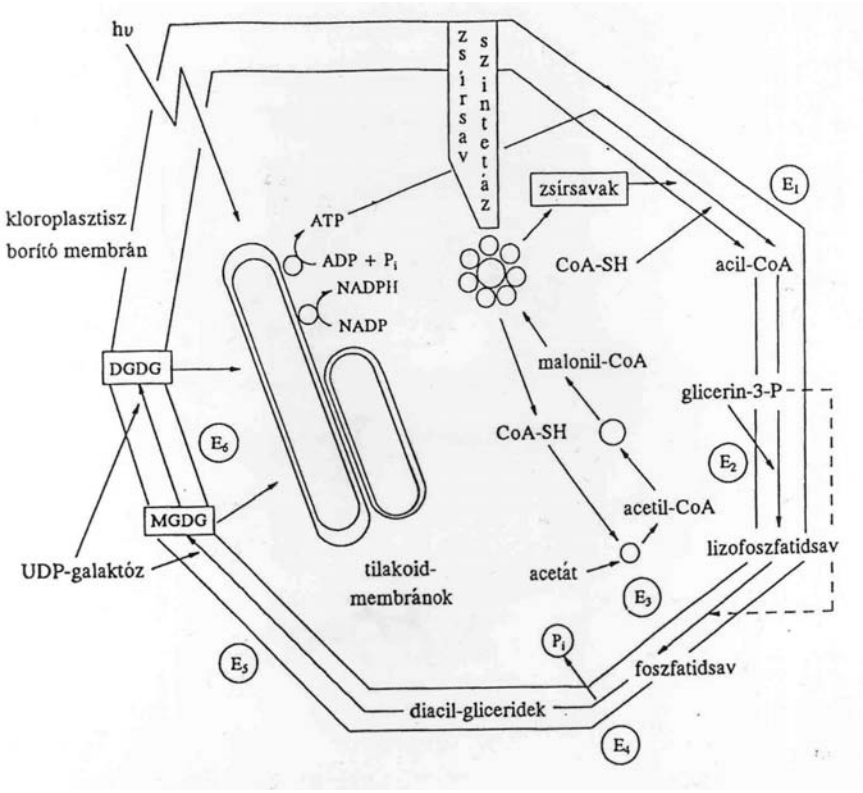
5.6.2. A galaktolipidek bioszintézise

A galaktolipidek bioszintézisét tekintve általánosan elfogadott, hogy galaktóz kapcsolódik egy diacil-gliceridre, UDP-galaktóz formájában, amelyet a MGDG-szintetáz (UDP-galaktóz:1,2-*sn*-diacilglicerid-3-β-galaktoziltranszferáz, E_5) katalizál és hozza létre a β-glikozidos kötést az UDP-galaktóz és a diacilglicerid között. Az enzim a kloroplasztisz borító membránjának belső oldalának felszínén lokalizált és a szubsztátjai különböző helyről származhatnak. Az UDP-galaktóz mindenképpen a citoplazmából érkezik, a G-3-P, illetve a DAG váz a kloroplasztiszból vagy a citoplazmából jöhet. A telített zsírsavak közvetlenül a kloroplasztisz FAS működésének termékei, míg a telítetlen

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

zsírsavak eredetére több lehetőség is fennáll (kloroplasztisz, ER). Azok a galaktolipidek, amelyek a glicerin-váz 1. és 2. poziciójában 18:1, 18:2, illetve 18:3 acilláncokat tartalmaznak (eukarióta típus), a DAG komponenst PC formájában az ER-ból kapják, míg a prokarióta típusú galaktolipidek 2. poziciójában általában 16:3 acillláncot tartalmaznak és a DAG a kloroplasztiszban szintetizálódik. Itt az első enzim a GPAT, (E_2), amely a borítómembrán belső oldalához kötött és katalizálja a 18:1 rákötését a glicerin 1. poziciójába és ezzel LPA keletkezik. A második enzim a LPAAT, (E_3), amely szintén a borítómembránban van és 16:0-t köt a LPA 2. poziciójába és így prokarióta típusú PA jön létre.

Az MGDG → DGDG lépést a kloroplasztisz külső borító membránjának citoplazma felőli oldalán elhelyezkedő galaktolipid:galaktolipid galaktoziltranszferáz (E_6) végzi, kialakítva az α-glikozidos kötést egy másik MGDG molekuláról származó galaktozil csoport között (2 MGDG → DGDG + 1,2-diacilglicerid). A kész galaktolipidek a borító membrán vezikularizációja során válnak a tilakoid membránok részévé. A galaktolipid bioszintézis folyamatát az **5.12. ábra** szemlélteti.



5.12. ábra Galaktolipidek szintézisének modellje a plasztisz borítómemránjában.

5.6.3. A szulfolipidek bioszintézise

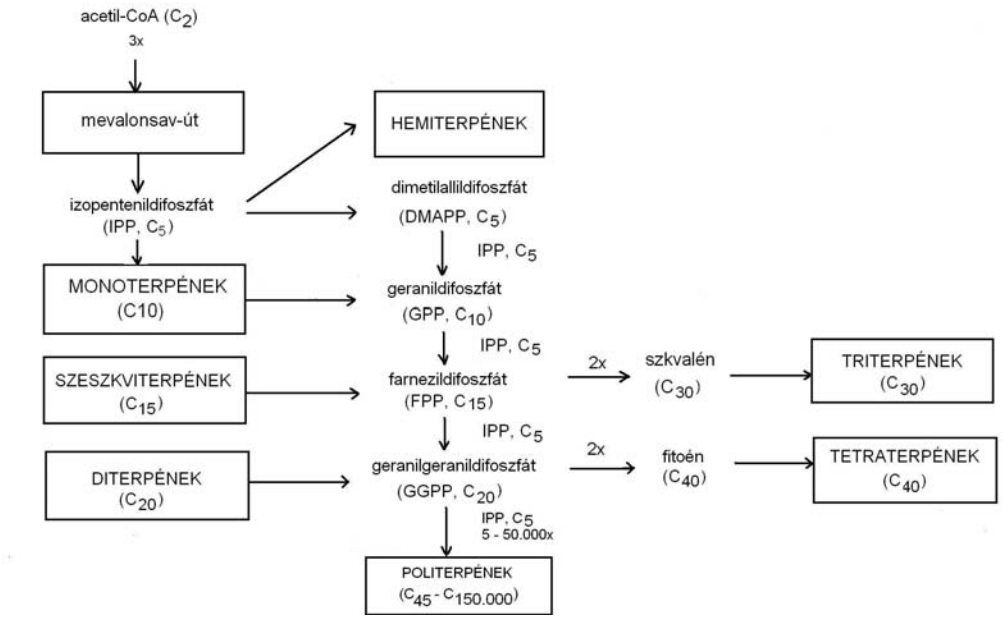
A szulfolipidek szintézisére vonatkozóan számos elképzelés létezik. A feltételezett prekurzor az UDP-szulfokinovóz, ami a cukornukleotid, az UDP-glukóz, szulfonálásával készül, UDP-szulfokinovóz szintetázzal, ami a plasztisz sztrómájában található. Annyi már tudott, hogy az utolsó enzimatikus lépést katalizáló enzim, az UDP-szulfokinovozil-1,2-diacilglicerin-3-O-α-D-szulfokinovozil-transzferáz, ami a diacilglicerid és az UDP-szulfokinovoz közötti kötést alakítja ki, a kloroplasztisz borító membránjának belső oldalán lokalizálható. Az SQDG szintézis fényfüggő folyamat, az SQDG szintetáz aktivitását a fény-indukált Mg^{2+} ion koncentráció növekedése fokozza.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

5.7. Terpenoidok

5.7.1. A terpenoidok felépítése

A növényekben hihetetlen nagyszámú, kb. 15.000 ismert terpenoid vegyület fordul elő és még valószínűleg számos fog előkerülni (a terpenoidok rendszerezését lásd a 11. fejezetben). Ezek a vegyületek közös eredetűek, C_5-ös izopentenil-difoszfát - IPP egységekből épülnek föl, és az egyes terpenoid osztályokat a C_5-ös egységek száma szerint rendszerezik (**5.13. ábra**). A terpenoidokat nonacil lipideknek is nevezik, mivel kevés kivételtől eltekintve, nem tartalmaznak zsírsavakat. Az alapstruktúráknak számtalan módosult formája létezik, előfordulnak oxigenált, N-tartalmú, halogénezett és ciklikus szerkezeteket tartalmazó terpének is.



5.13. ábra A terpén-pirofoszfátok és a belőlük levezethető terpén osztályok képződésének vázlatos útja

Képviselőik között megtalálunk membránépítőket (szterolok), növényi hormonokat (ABA, gibberellinek, brasszinoszteroidok), járulékos pigmenteket (karotinok és xantofillok), az elektrontranszport láncok tagjait (plasztokinonok, ubikinonok, fillokinon), a patogének és a rovarok elleni védekezés komponenseit, növény-növény, növény-állat kommunikációban szerepet játszó, szaporodásban közreműködő vegyületeket. Számos vegyület, vagy vegyület együttes humán felhasználása is jelentős: gyógyszer alapanyagok (szaponinok – progeszteron, rákellenes szer a tiszafa taxolja, vitaminok (A, E, D, K), növényi olajok komponensei (illatszerek alkotói, oldószerek – terpentin), ipari nyersanyagok (kaucsuk).

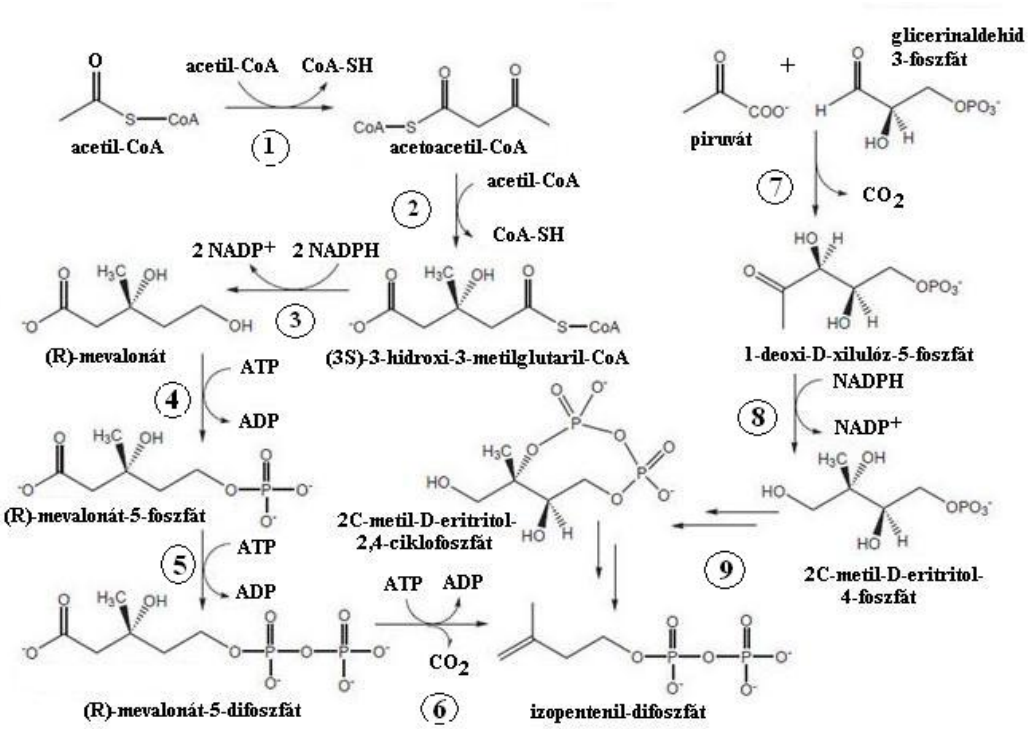
Szintézisük három fő szakaszra tagolható:

- Az izopentenil-difoszfát (IPP) szintézise – acetil-CoA-ból → mevalonsav-út, valamint piruvátból és G-3-P-ból (**5.14. ábra**).

- Az IPP izomerizációja dimetilallil-difoszfáttá (DMAP) (**5.14. ábra**).

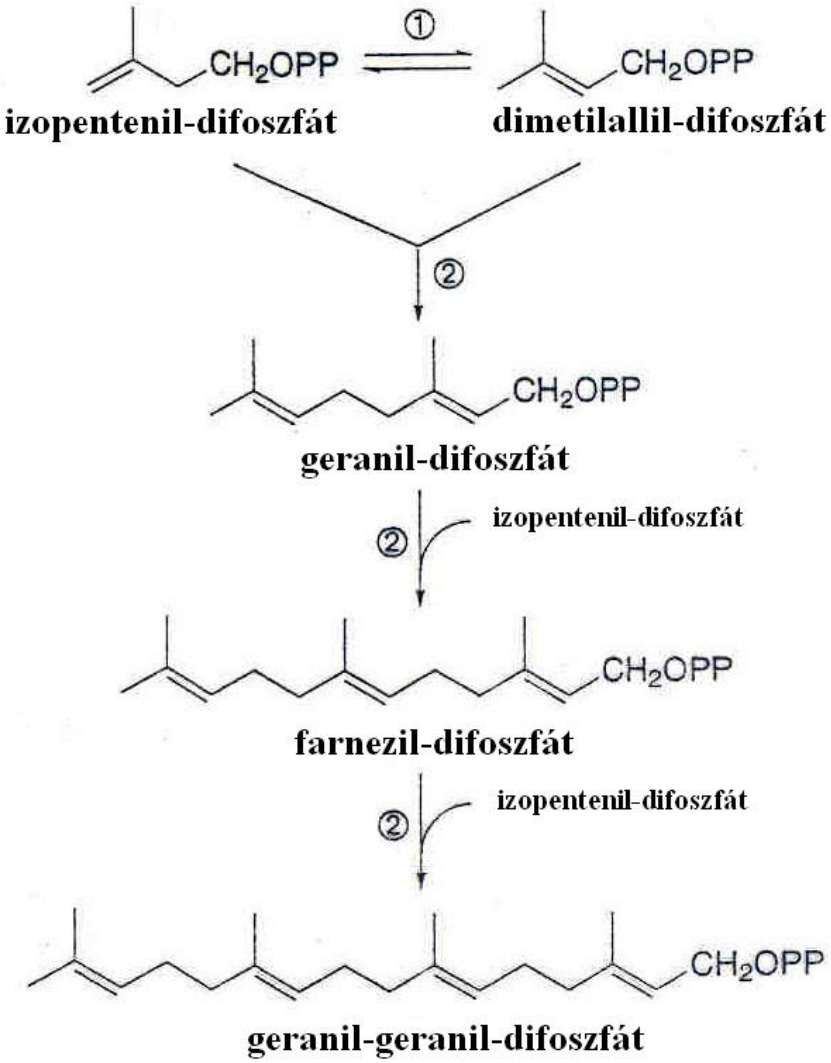
- Két DMAP kondenzációja geranil-difoszfáttá (GPP) (**5.15. ábra**).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.14. ábra A mevalonsav-út. (1- 1-acetatoacetil-CoA tioláz; 2 – 3-hidroxi-3-metil-glutaril szintetáz; 3 – 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA-reduktáz; 4 - mevalonsav kináz; 5 - mevalonát-5-foszfát kináz; 6 – mevalonát-5-difoszfát dekarboxiláz; 7 – 1-deoxi-D-xilulóz-5-foszfát szintetáz; 8 – 2C-metil-D-eriritol szintetáz; 9 - 2C-metil-D-eriritol-2,4-ciklodifoszfát szintetáz)

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.15. ábra Két dimetilallil-difoszfát (DMAP) kondenzációja geranil-difoszfáttá (GPP). (1 – izopentenil-difoszfát(IPP) izomeráz, 2 – prenil transzferáz)

5.7.2. A terpenoid bioszintézis kompartmentizációja

A bioszintézis, ha bizonyos eltérésekkel is, három kompartmentben folyik: az ER-ban piruvátból és G-3-P-ból, a plasztiszokban a mevalonsav úton, valamint a mitokondriumban. Az ER-ban főként szeszkviterpének és szterolok, a plasztiszokban karotinoidok, fitol, plasztokinonok, tokoferol, a mitokondriumban ubikinonok szintetizálódnak.

5.7.3. Terpénosztályok

5.7.3.1. Hemiterpének (C5)

A legfiatalabb terpén osztály. Igazán csak az izoprén valódi hemiterpén, amelyről nemrégen derült ki, hogy előfordul a természetben. Sok fás szárú növény emittál izoprént (pl. tölgy, nyárfa), de előfordul a páfrányokban is.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

5.7.3.2. Monoterpének (C10)

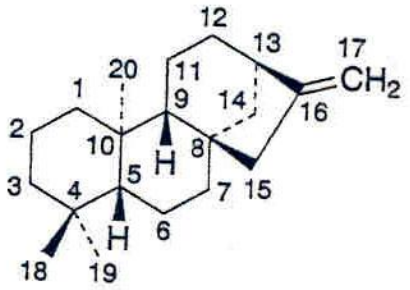
Két IPP egységből felépülő struktúrák. Számos növényi olaj összetevője. Különösen sok akkumulálódik az *Umbelliferae* és *Pinacae* családba tartozó fajokban. Általában citotoxikusak, míg mások fontos szerepet játszanak a növény-növény kapcsolatokban. Más monoterpének antibakteriális hatásúak.

5.7.3.3. Szeszkviterpének (C15)

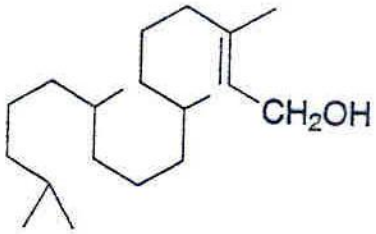
Az egyik legnépesebb terpén osztály. Magasabb rendű növényekben, algákban és gombákban egyaránt előfordulnak. Eddig már több mint 100 szeszkviterpén vázat írtak le és több ezer vegyületet azonosítottak. Akkumulációjuk sok esetben speciális kiválasztó szövetben történik. Az alapvegyületből számos ciklizációs és váz átrendeződéssel járó reakciók során alakulnak ki. Található közöttük fitoalexinek, mikotoxinok, antibiotikumok és növényi növekedésszabályozó vegyületek egyaránt. Ide tartozik az ismert növényi hormon, az abszcizinsav (ABA) is.

5.7.3.4. Diterpének (C20)

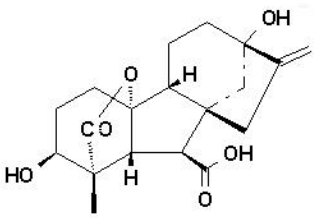
Több mint 3000 vegyületük ismert. A diterpének szerkezete GPP-ból vezethető le, többszöri váz átrendeződéssel. Előfordulnak a fenyők gyantájában, magasabb rendű növényekben, különösen pillangósokban, fészkesekben és az *Euphorbiaceae* genus-ban, valamint gombákban. A legtöbb diterpén ciklikus vegyület, kivétel a fitolt, ami egy nyíltláncú terpénalkohol és a klorofillokat észteresíti (**5.16. ábra**). Egy másik ismert csoportjuk a gibberellinek (pl. a GA_1), amelyek tetraciklusos diterpének és a növények növekedését és fejlődését szabályozzák (**5.16. ábra**).



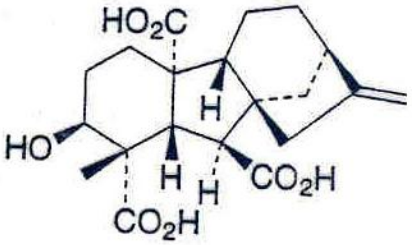
ent-kaurén



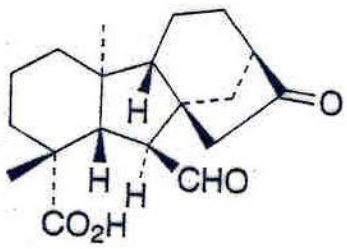
fitol



GA_1



GA_{13}



GA_{12}-aldehid

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

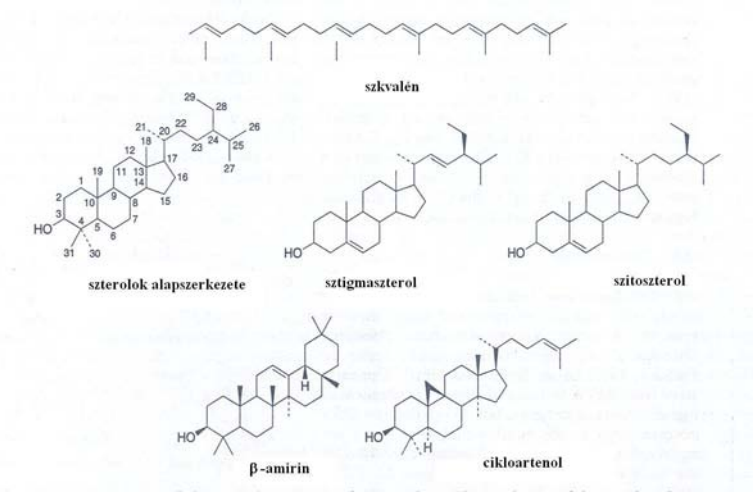
5.16. ábra Diterpén vegyületek szerkezetei

5.7.3.5. Szeszterterpének (C25)

A C_{25}-ös molekula a GPP + IPP kondenzációjával képződik → GFPP.

5.7.3.6. Triterpének (C30)

A C_{30} terpenoidok két molekula FPP fej-fej kondenzációjával jönnek létre és szkvalén képződik, ami az összes triterpén alapvegyülete. Eddig már több mint 4000 vegyületet és ezen belül 400 különböző vázat azonosítottak, amelyekben közös a pentaciklusos vázrendszer, ld. β-amyrin (**5.17. ábra**). Triterpénekhez tartoznak a szterolok is, amelyek alapváza egy 3β-monohidroxi-perhidro-1,2-ciklopentano-fenantrén gyűrűs rendszer. Eddig már közel 300 szterolt izoláltak. Ezek a molekulák gyakran észteresednek zsírsavakkal a C_3-as -OH csoportnál. A szterilészterek a membránokban és a szolubilis frakciókban egyaránt előfordulnak. Jellegzetes képviselőik a szitoszterol, a sztigmaszterol, a kampeszterol és a koleszterol. A plazmamembrán tartalmazza a legtöbb szterolt, de a kloroplasztisz membránjaiban is előfordulnak, jóval kisebb mennyiségben. A szterolok többsége a membrán építésében vesz részt.



5.17. ábra. Növényi szterolok szerkezetei

5.7.3.7. Tetraterpének (C40)

A legegységesebb terpén osztály, kb. 600 vegyülettel. Ezt az osztályt a karotinoidok alkotják, amelyek jellegzetes növényi pigmentek. Fontos komponensei a növényi szervezetek fotoszintetikus apparátusának (ld. 3. fejezet), valamint számos termés és virág színéért felelősek. Két fő csoportba sorolhatók: a csak szénhidrogénláncból felépülő karotinok és az oxigént is tartalmazó xantofillok. A bennük lévő konjugált kettős kötések számától és poziciójától függően a színük különböző, a 3 kettős kötést tartalmazó, színtelen fitoéntől, a 13-at hordozó vörös színű cantaxininig.

A karotinoidok minden magasabb rendű növény fotoszintetizáló szövetében megtalálhatók. Karotinok és xantofillok nagyobb mennyiségben: β-karotin illetve, lutein, violaxantin és neoxantin, illetve minor komponensként: α-karotin, illetve β-kriptoxantin, zeaxantin, anteraxantin és lutein-5,6-epoxid.

Nem-fotoszintetizáló szövetekben is gyakran és változatosan fordulnak elő. Sziromlevelekben három fő csoportjukat találni: az erőteljesen oxidált karotinoidokat, mint pl. a auroxantint és a flavoxantint; a karotinokat, mint pl. a β-karotint a *Narcissus*-ban, és a fajspecifikus karotinoidokat, mint pl. a crocetint a *Crocus*-ban.

A porzók és a pollenek is tartalmaznak speciális karotinoidot, a sporopollenint, ami zömében karotinoid polimer. Sok magban is megtalálhatók, mint pl. a kukorica maghéjában (β-karotin, β-kriptoxantin és zeaxantin). A gyökérben előforduló karotinoidokra a legismertebb példák a sárgarépa és az édesburgonya (β-karotin).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A karotinoidok élettani funkciói: reakciócentrum és fénygyüjtő pigment-protein komplexek alkotó elemei, részt vesznek a fotooxidáció elleni védelemben, a triplet állapotú klorofill és a szinglet oxigén kioltásában, illetve befogásában befogásában (violaxantin-ciklus), virágszirmokban a rovarcsalogatásban, és prekurzorok az ABA szintézishez.

5.7.3.8. Politerpének

A politerpének nagymolekulájú, $(C_5H_8)n$ alapképlettel leírható polimer molekulák. A kaucsukban (*Hevea brasilienesis*) a monomer C5 egységek all-cis konformációjúak, míg a guttában all-transz. A gumi szintézisében a lánchosszabítás az IPP egységek egymás utáni hozzáadásával történik a már meglévő polimerhez. A transzferáz szolubilis enzim, ami a kaucsuk felületén helyezkedik el. Közel 1800 fajban írtak le politerpén szintézist, amely fajok főként az Apocynaceae, az Asclepiadaceae, a Compositae, az Euphorbiaceae és a Moraceae családokba tartoznak.

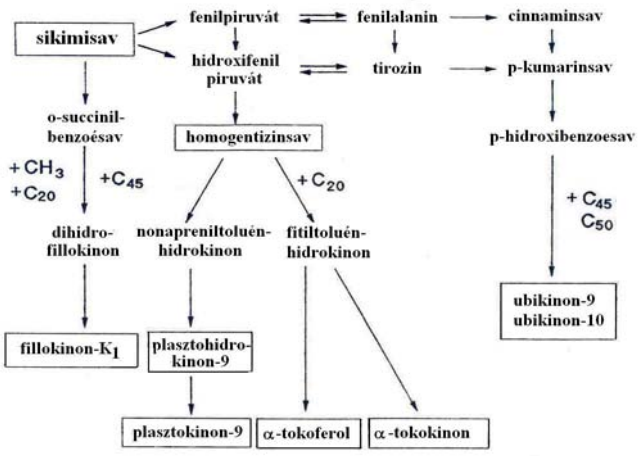
5.7.4. Nyílt szénláncú terpenoid alkoholok – prenolok

5.7.4.1. Egyszerű prenillipidek

A magasabb rendű növényekben, algákban és néhány gombában mutattak ki lineális, telítetlen, 45-115 szénatom számú monomer prenolokat és poliprenolokat, amelyekben változóan *cisz*, illetve *transz* kettős kötések vannak. A tiszta prenillipidek csak C_5-ös egységekből épülnek föl. Az első molekula, amit leírtak a solanesol (C_{45} – all-*transz*-nonaprenol) volt.

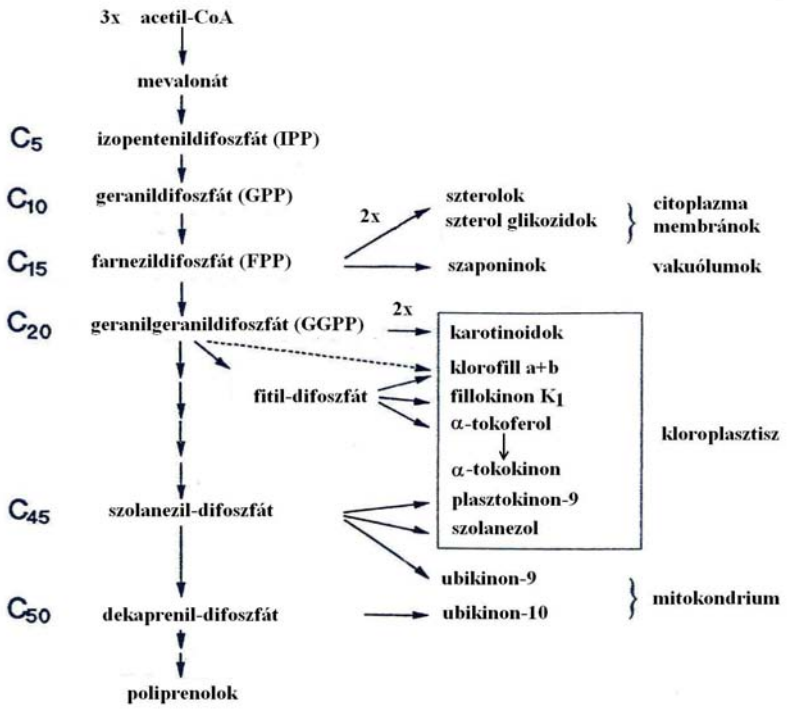
5.7.4.2. Komplex prenillipidek

Az összetett, vagy komplex prenillipidekben az izoprenoid lánc mellett aromatikus gyűrűs struktúrát is találni, mint például a benzokinon gyűrű a plasztokinon (C_{45} lánc), a tokoferol, (C_{15} lánc), az ubikinon (C_{50} lánc) és a fillokinon (C_{15} lánc) esetében, illetve adenin a citokininnél (C_5 – izopentenil-adenin). Szintézisük a shikimisav úton történik, amelynek a prekurzorai az eritróz-4-P és a foszfoenolpiruvát. Ezen az úton számos összetett vegyülethez képződnek aromatikus gyűrűs szerkezetek: aromatikus aminosavak, antociánok, flavonoidok, alkaloidok, lignin, fitoalexinek, auxin, stb., (**5.18. ábra**). A komplex prenillipidek és az egyesterpenoid osztályok kapcsolatát az **5.19. ábra** mutatja.



5.18. ábra A shikimisav-út, a komplex prenillipidek képződése

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.19. ábra A komplex prenillipidek szintézisének vázlatos sémája és kapcsolata a terpén alapvázakkal

5.8. Tokoferolok és tokotrienolok a növényben

5.8.1. A tokoferolok és tokotrienolok felépítése

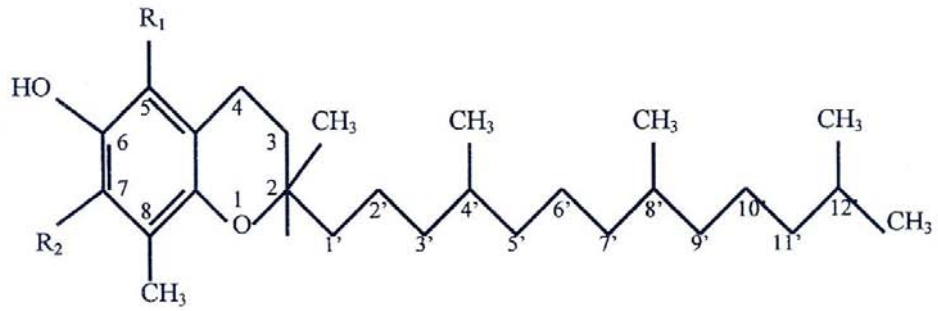
A tokoferolok és a tokotrienolok az E vitamin családba tartozó vegyületek, amelyek csak a hidrofób prenil oldallánc telítettségében különböznek. Az E vitamin elnevezés 1922-ből (Evans és Bishop) származik és a humán táplálkozással hozták kapcsolatba. Jóval később ismerték fel antioxidáns szerepüket és mutatták ki jelenlétüket a növényekben is.

Mindegyik E vitamin családba tartozó vegyület egy kromanol fejcsoportból és egy prenil oldalláncból épül fel. Ezek amfipatikus molekulák, ahol a hidrofób prenil lánc membránokkal asszociál, míg a poláros fejcsoport a membrán felszínén helyezkedik el. A tokoferolok 4',8',12-trimetiltridecil fitol oldallánccal rendelkeznek. A tokotrienolok kettős kötéseket tartalmaznak a 3',7',11' pozícióban. A kromanol gyűrűn lévő szubsztituensek milyensége szerint több természetes izomerjük (α, β, γ, δ) létezik (**5.20. ábra**).

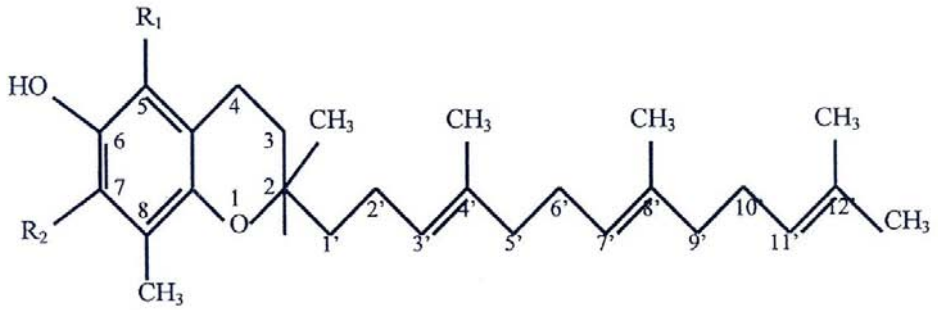
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

tokoferol/tokotrienol	R_1	R_2
α	CH_3	CH_3
β	CH_3	H
γ	H	CH_3
δ	H	H

(A) tokoferol

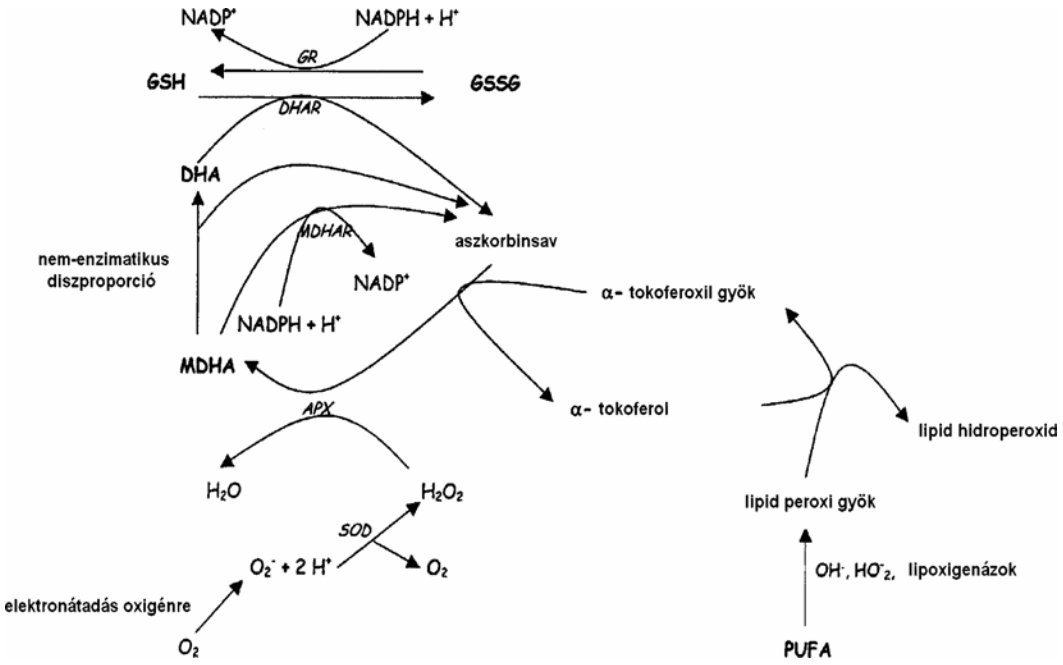


(B) tokotrienol



5.20. ábra. A tokoferolok és a tokotrienolok kémiai szerkezete

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.21. ábra Az α-tokoferoloxi gyök α-tokoferollá történő reciklizálása az aszkorbát-glutation ciklus közreműködésével. (APX – aszkorbát peroxidáz, DHAR – dehidroaszkorbát reduktáz, GR – glutation reduktáz, GSH – glutation, GSSG - glutation diszulfid, MDHA – monodehidroaszkorbát, MDHAR – monodehidroaszkorbát reduktáz, PUFA – többszörösen telítetlen zsírsav, SOD – szuperoxid diszmutáz).

Ezeket a vegyületeket fotoszintetizáló baktériumokban, gombákban, algákban, magasabb rendű növényekben és állati szervezetekben egyaránt kimutatták, bár az utóbbiak a szintézisükre nem képesek.

A növényben főként a plasztiszokban fordulnak elő, de kimutatták őket vakuólumokban és a mikroszóma frakcióban is. α-tokoferol van a plasztisz borító membránjában, ahol szintetizálódik és a plasztisz sztrómájának plasztoglobulusaiban, ahol raktározódik, valamint a kloroplasztisz tilakoid membránjainak lipid matrix-ában is.

A tokoferolok és a tokotrienolok két különböző molekula részlete más-más úton szintetizálódik. A prenil lánc az izoprenoid-úton jön létre, a kromanol gyűrű a sikimisav-úton készül el (**5.19. ábra**).

5.8.2. A tokoferolok élettani szerepe

A tokoferolok és tokotrienolok antioxidáns tulajdonsága azon alapszik, hogy a fejcsoport fenolos hidrogént tud átadni szabad gyököknek. Ennek alapján szerepük egyrészt a lipidperoxidáció által létrehozott lipid peroxid gyökök, illetve a fotoszintézis során generált szinglet oxigén eliminálásában van. A folyamatban a tokoferol enzimatikusan, NADH/NADPH-függő reakcióban tokoferol kinollá alakul, ami hatásos antioxidáns, szabad gyök kioltó, illetve regenerálja az oxidált tokoferolt (**5. 21. ábra**).

5.9. Viaszok, kutin, szuberin

5.9.1. A viaszok, a kutin és a szuberin szintézise

Az evolúció során a szárazföldi növények összetételében és működésében is sajátos epidermisz képződményt, a **kutikulát** hozták létre, ami képessé teszi őket, hogy megelőzzék a vízvesztést, hatékony gátat képezzenek a patogén behatolók ellen és védjenek az UV sugárzástól. Ugyanakkor aktív védelmi vonalat is képez, mivel sérülésekkor az egyes felszabaduló lipidkomponensek antibakteriális, antifungális, antivirális hatásúak. Számos további bizonyíték gyűlt össze arra nézve, hogy a kutikulának fontos szerepe van a növény és a patogén közötti szignál cserében.

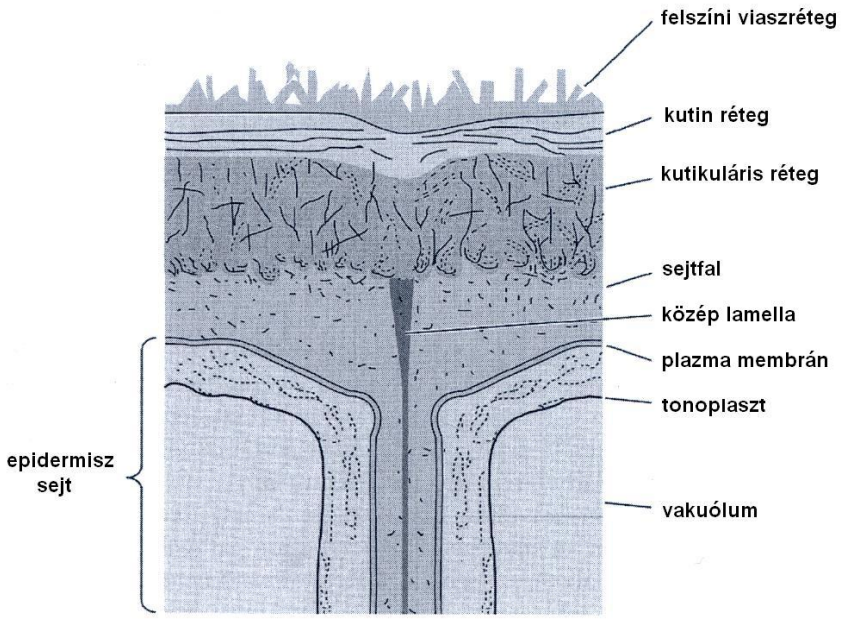
A kutikula felépítése fajonként, szervenként és fejlődési állapotonként igen eltérő lehet, de alapvetően erősen hidrofób komponensekből épül fel. A viasz és kutin rétegek az epidermális sejtfal külső felszínén helyezkednek el, míg a szuberin a sejtfal és a sejt plazmamembránja között található el (**5.22. ábra**).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A kutikula összetett, rétegesen felépülő, egymásba is beágyazódó **viasz**, illetve **kutin** polimerekből épül föl. Kívül helyezkednek el az epikutikuláris viaszok, amelyek közepes, és hosszú szénláncú alkánokat (C_{14}-C_{37}), ketonokat, észtereket, alifatikus primer és szekunder alkoholokat (C_{22}-C_{31}), alifatikus aldehideket (C_{20}-C_{34}), és zsírsavakat (C_{20}-C_{38}) tartalmaznak.

Az epikutikuláris viaszréteg alatt található az un. kutikula „proper” réteg, amely egy háromdimenziós kutin matrix, beleágyazódva alternáló viaszrétegekkel. Ez alatt egy olyan lazább **kutin** réteg helyezkedik el, amiben poliszaharid láncok (pektocellulóz) is találhatók.

A kutin egy sajátos poliészter struktúra, ami közepes hosszúságú ω-hidroxi- és epoxi-zsírsavakból ($C_{16} - C_{18}$) épül fel.



5.22. ábra. A kutikula réteges szerkezete

5.9.2. A viaszok, a kutin és a szuberin szintézise

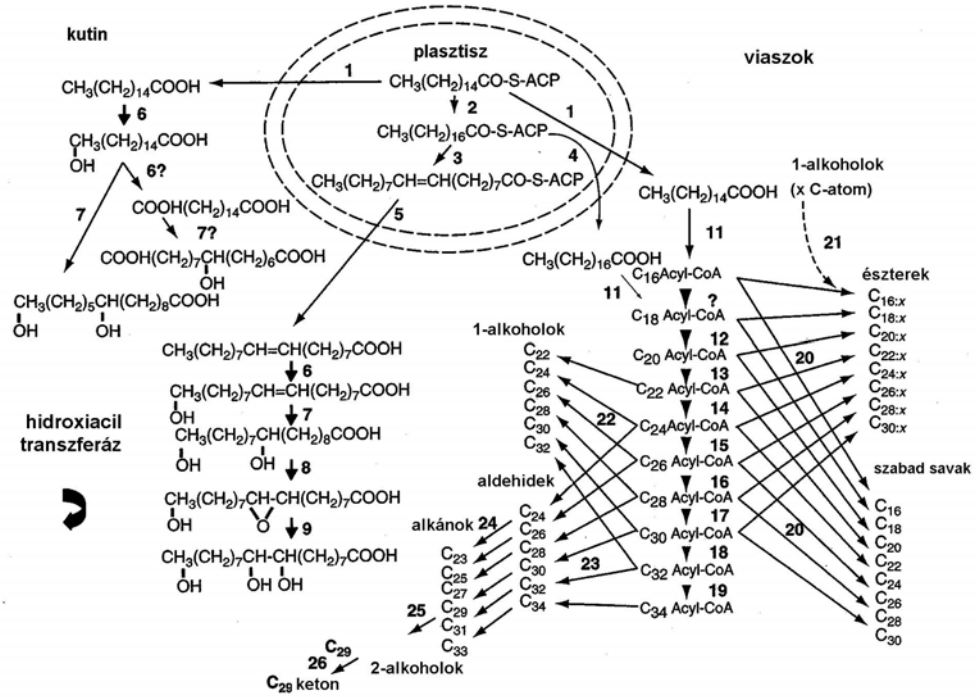
A viaszok hosszú szénláncú alifatikus komponensei elongációs folyamat során képződnek malonil-CoA és NADPH közreműködésével, ahol az akceptor általában sztearil-CoA. A hosszú szénláncú zsírsavakból redukcióval aldehid intermediereken keresztül zsíralkoholok keletkeznek, NADPH-függő-zsírsav-acil-CoA-reduktáz enzim közreműködésével, vagy dekarboxilezhetők alkánokká. A szénhidrogének hidroxilációja és oxidációja további komponenseket: alkoholokat, ketonokat hoz létre, amelyek zsírsavakkal alkotnak viaszésztereket. A viaszészterek szintézise -zsíralkoholok és zsírsavak észterei- komplex enzimrendszer, a zsírsav-szintetáz:zsírsav-acil-CoA-reduktáz:acil-CoA-zsíralkohol-transzaciláz segítségével megy végbe enzimkomplex. A viasz- és kutinkomponensek képződésének vázlatát az **5. 23. ábra** mutatja be. Ezek folyamatok a citoplazmában és az ER-ben zajlanak.

A **szuberin** fő ω-hidroxisavai és dikarbonsavai a megfelelő C_{16} és C_{18} komponensek ω-hidroxilációja, majd többlépéses dehidrogenációja során alakulnak ki. Kimutattak továbbá olyan enzimeket is, amelyek a kutint alkotó komponensek láncközi hidroxilációjáért és epoxidációs lépésekért felelősek. A kutin és a szuberin polimer struktúrájának kialakításában transzacilációs reakciók játszódnak le a kutinok szabad hidroxil csoportjai és odaszállított hidroxi-zsírsavak között, illetve a szuberin fenolos hidroxi csoportjai és az érkező dikarbonsavak között. A szuberint elsősorban a gyökér öregedő epi(rizo)dermisz sejtjei és a sérült részeken képződő szövetek tartalmaznak, de megtalálható gumókban és a háncsrészben is.

A kutikulát felépítő komponensek a sejten belül szintetizálódnak és ezután jutnak ki az extracelluláris térbe, ABCG transzporterekkel, vagy exocitózissal.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Amikor felfedezték a lipid transzfer proteineket (LPTs) (1975, 1996), amelyek zsírsavakat, acil-CoA észtereket, foszfolipideket, glikolipideket és származékaikat szállítják a membránok között úgy tűnt, hogy ezek csak intracellulárisan működnek. Újabban kimutatták, hogy számos LTP specifikusan lokalizált a kutikulában és szerepe van a viasz és kutin monomerek szállításában a plazmamembránból, a felépülő kutikulába.



5.23. ábra Hosszú szénláncú savak, aldehidek, alkoholok és viaszészterek bioszintézisének sémája

5.10. A zsírsavak és a lipidek szállítása

A növényi sejtben a zsírsavak és a lipidek szintézisében több kompartment vesz részt: a plasztisz, a plasztisz borító membránjának külső és belső rétege, az ER és kisebb mértékben a mitokondrium. A plasztiszban *de novo* előállított és az eukarióta úton mozgó zsírsavak lipidekbe való beépülésének színtere az ER. A lipidek, elsősorban a foszfolipidek beépülése a membránokba ugyanakkor a sejt számos más térrészében is történik. Ezért kézenfekvő feltételezni, hogy a szintézis és a beépülés helyei között valamilyen szállító mechanizmusnak kell működnie. A zsírsavak, illetve a lipidek membránok közötti mozgására, mozgatására több megoldás is lehetséges:

- zsírsavak, lipidek diffúziós mozgása a citoszólban,
- zsírsavak, illetve lipidek mozgatása szállító molekulákhoz kötötten,
- vezikuláris lipid transzport membrán-membrán kapcsolatokon keresztül.

Diffúziós mozgást főként csak a vízoldékony acil-CoA molekulák esetében lehetett kimutatni a citoszólban, illetve a plasztisz sztrómájában.

A zsírsav, illetve lipid szállító molekulákat először állati sejtekben mutatták ki, majd jelenlétüket a növényben kísérletesen is igazolták. A különböző vizsgálatok során több olyan fehérjét (LTP – **lipid transzfer proteinek**) mutattak ki, amelyek részt vehetnek a zsírsavak, illetve a lipidek transzportjában. Ezek kis móltömegű (9-11 kDa), bázikus, vízoldékony proteinek, a sejt összfehérje tartalmának kb. 4%-át adják. Vannak olyan LTP-k, amelyek nem specifikusak az egyes foszfolipidekre, míg mások igen. Találtak olyan LTP-ket a kloroplasztiszban, amelyek galaktolipidek szállítására alkalmasak, vagy amelyek zsírsavakat, illetve acil-CoA-kat kötöttek. De olyan szállító fehérjéket eddig még nem izoláltak, amelyek neutrális lipideket tudnának szállítani.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Az LTP-k aminosav sorrendje erősen konzervatív, ugyanakkor igen kevés homológiát mutatnak az állati, illetve élesztő LTP-kel. Különösen konzervatív a lipidkötő környezet, ahol négy pár cisztein oldallánc található. A kötőhely pozitív töltésű, jelezve a kapcsolódási lehetőséget a foszfolipidek negatív fejcsoportjával. Az LTP felülete hidrofil, így egy szolubilis, mozgékony LTP-lipid komplex jöhet létre, amely közreműködhet a donor és akceptor membrán közötti lipid cserében, amit befolyásol a membránfelszínek töltésállapota, a közeg ion összetétele és a szállított lipid természete.

A harmadik lehetőség a lipidek transzportjára a **vezikuláris lipid transzfer** két, vagy több membrán között. Már korábban is ismert volt, mikroszkópos vizsgálatok alapján, hogy bizonyos membránok között stabil membrán-membrán kapcsolatok, „contact membrane sites"-ok (CMSs) jöhetnek létre . Ilyenek voltak az ER-Golgi, ER-sejtmag membránok kapcsolatai. Újabban kimutatták őket az ER – kloroplasztisz, az ER – plazmamembrán, az ER – mitokondrium között is. A továbbiakban igazolható volt, hogy az ER membránhálózata összeköttetést létesíthet különböző kompartmentek membránjai között is és ez alapján valószínűnek tűnik, hogy az ER központi szerepet játszik a lipidek mozgatásában, közvetítésében és leválogatásában (sorting-jában).

További transzport tűnik szükségesnek a kloroplasztisz borító membránjának két rétege és a tilakoid membránok között, hiszen a tilakoidok felépítésében szerepet játszó galaktolipidek és a PG előállítása kizárólag a borító membránban valósul meg. Befelé irányuló transzport vezikuláris úton is mehet és a vezikulák fúzionálnak a tilakoid membránokkal.

Az **intracelluláris lipid transzport**ban feltehetően szerepet játszó LTP-k mellett szép számban találtak LTP-ket a sejtfalban is. Ezek részt vesznek a viaszok és a kutin felépülésében, sőt igazolt a szerepük a viasz és kutin monomerek szállításában az ER → Golgi → plazmamembrán (szekréció) → sejtfal irányába. Ugyanakkor érdekes, hogy több antipatogén, extracelluláris fehérje alaposabb vizsgálata során kiderült, hogy nagy homológiát mutatnak egyes LTP-kel. Sőt ezek expresszióját a patogének, vagy más stressztényezők (szárazság, sóstressz) jelenléte indukálja. Így nem kizárt, hogy az extracelluláris LTP-k szerepe nem merül ki a zsírsavak és a lipidek szállításában, hanem részei a növény védekezőrendszerének.

5.11. Lipidek és a membránszerkezet

A biológiai membránoknak számos követelményt kell kielégíteniük az élő szervezetben:

- szelektíven permeábilis gátat jelentenek két, túlnyomóan vizes fázis között;
- stabil közeget biztosítanak lipofil és hidrofil reakciók számára és olyan térbeli szerkezetet szolgáltatnak a bennük és rajtuk elhelyezkedő fehérje (enzim) komplexek számára, amely biztosítja azok katalitikus aktivitását (receptorok, energiaátalakítás, laterális és vertikális transzport, enzim reakciók);
- és rugalmas határvonalat képeznek a sejt és organellumai és ezek kompartmentjei, valamint a környezet között;
- valamint tároló, kiválasztó és szállító szerepet töltenek be (TAG elkülönítése olajtestekben, sószekréció az ER-ban, illetve a Golgi membránokban szintetizált vegyületek kompartmentbe zárása, szállítása);
- mindehhez az szükséges, hogy a membrán elég szilárd legyen ahhoz, hogy a megkívánt szerkezetet fenntartsa. Rugalmas, hogy kibírja a sejt és az organellumok, valamint a környezet alakváltozásait és fluid, hogy biztosítsa a benne lévő fehérjepartikulumok alapvetően laterális irányú elmozdulásait.

Már egy jó ideje világos, hogy a membrán három-dimenziós, különböző rendezettséget mutató, magas szinten szervezett rendszer, amely mint fehérjéket tartalmazó lipid mátrix értelmezhető.

5.11.1. A membránok szerkezete

A ma is elfogadott membrán modell kidolgozása Singer és Nicolson (1972) nevéhez fűződik és mint a „fluid-mozaik membrán modell" vált ismertté. E szerint az amfipatikus, összetett lipidek fluid, kettős réteget alkotnak, amelybe integráns membránproteinek ágyazódnak be, vagy érik át a membránt. A termodinamikailag stabil állapotot az jelenti, ha ebben a rendszerben a lipidek hosszú alkilláncai a kettős réteg hidrofób régióját alkotják, míg a poláros fejcsoportok a membrán felszínén helyezkednek el a vizes fázis felé. A kétféle -poláros és apoláros- kapcsolat, valamint az alkilláncok közötti másodlagos kötőerők stabilizálják a membránszerkezetet, de ezek azért nem olyan erősek, hogy azt merevvé tegyék. Ez a lipid kettős réteg impermeábilis a poláros és a nagyobb apoláros molekulák

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

számára, míg számos kisebb vegyület számára átjárható. A különböző mértékben beágyazódó, vagy átnyúló fehérjék – extrinsic és intrinsic proteinek – hidrofób, illetve hidrofil kölcsönhatásba lépnek a lipid kettős réteg megfelelő részeivel és így meghatározott struktúrát vesznek fel. Egyes fehérjék horizontális (pl. az elektrontranszport lánc tagjai), míg mások vertikális (transzport ATP-ázok, receptorok) energia-, információ- és anyagtranszportot képesek lebonyolítani, biztosítva a membrán szelektivitását és kapcsolatát a környezettel. Egyes fehérjék hidrofób oldalláncai a lipidek alkillánc régiójával, hidrofil csoportjai a lipidek poláros fejcsoportjaival, vízzel, ionokkal, illetve szubsztrátjaikkal lépnek kapcsolatba a membrán felszínén.

A membránfehérjék enzim-, transzport-, receptor- és struktúraépítő funkcióinak kialakításában és fenntartásában így a lipid környezetnek meghatározó, adott esetekben szabályozó szerepe van. A lipid-fehérje kölcsönhatás, vagy annak megváltozása befolyásolhatja a fehérjék konformációját, az enzimműködés kinetikai és termodinamikai sajátosságait és így a membrán fiziológiai állapotát, végső soron annak működését. A lipidek által biztosított mozaikosan szerveződő fluid-mátrix egyrészt lehetővé teszi a fehérjék random eloszlását a membránban, vagy annak felszínén, ugyanakkor nem zárja ki annak a lehetőségét sem, hogy speciális funkciók ellátására hosszabb távú kapcsolatok alakuljanak ki. Így például az oxidatív, illetve a fotoszintetikus elektrontranszport lánc a mitokondriumban, illetve a kloroplasztisz tilakoid membránjaiban, vagy sajátos lipid környezet maradjon fenn (boundary lipids - határréteg), például a fénygyüjtő antenna komplexek, illetve a fotokémiai rendszerek reakciócentrumainak közvetlen szomszédságában.

Nem sokkal a „fluid mozaik membrán modell” kimunkálását követően, a membrán lipidjeinek hőmérsékletfüggő viselkedését tanulmányozva ismertté vált, hogy különböző rendezettségű és egymástól elkülönülő lipid fázisok (domének) egyidejű jelenléte egy további laterális heterogenitást mutat a membránokban. Erről szól az un. „lipid raft hypothesis”.

A membránt felépítő lipidek lamelláris szerkezete mellett a membránok tartalmaznak olyan lipideket is, amelyek nem alkotnak lamelláris fázist (non-bilayer lipids – PE, kardiolipin, MGDG). Fehérjék hiányában, fiziológiás körülmények között, a membrán lipidek jelentős mennyiségű non-bilayer lipid struktúrát tartalmaznak. A fehérjék jelenléte (beépülése) ugyanakkor kiváltja a lipid kettős réteg kialakulását, a non-bilayer lipidek kettős rétegbe való szerveződését. A non-bilayer és a lamelláris lipidek egyensúlyban vannak egymással, ami azt is jelenti, hogy hosszú távú lamelláris protein-lipid rendezettség bizonyos fehérje/lipid aránynál alakul ki, illetve marad fenn.

5.11.2. A membránlipidek fázisai

A lipid kettős rétegek (lamelláris fázisok) rendszerint magas fluiditású folyadék-kristályos fázist (L_β) alkotnak, amelyben a lipidek acilláncai rendezetlenek és nagy mobilitásúak. A hőmérséklet csökkenésével az olvadáspontjuk alatt a kettős réteg átmegy rendezett-gél állapotba (L_α), ahol a láncok mozgásszabadsága alacsony. Megjelenhet egy harmadik fázis, a rendezett-folyadék fázis is, ahol az acilláncok rendezettsége nagy, de a réteg laterális mobilitása magasabb, mint a gél fázisé. Ismeretes még a non-bilayer lipidek alkotta hexagonális (H_{II}), inverz hexagonális, különböző köbös, valamint több féle metastabil (I_β) fázis. A fázisok elkülönülésének oka, hogy a különböző acilláncok, illetve fejcsoportok eltérő fizikai tulajdonságokkal bírnak (lánchosszúság, telítetlenség mértéke, olvadáspont, töltésállapot, hidratáltság) és változó a környezet is (ionerő, pH, ionösszetétel és koncentráció).

A domének, amelyek különböznek a méreteikben (nanométer, mikrométer nagyságrendben), a térbeli és időbeli dinamikájukban változhatnak, felbomolhatnak és újraszerveződhetnek a környezet hatásainak megfelelően.

A tilakoid membránokban az MGDG széles hőmérsékleti intervallumban (–15 és 80^{o}C) H_{II} fázisban van. A DGDG egészen másképpen viselkedik. Lamelláris fázist alkot minden hőmérsékleten és hidratáltsági fokon. A többszörösen telítetlen DGDG 20^{o}C-on L_α fázisban van és az L_β fázisba való átmenet csak –50^{o}C alatt következik be. A PG telítetlen állapotban L_α fázisban van és a tranziciós (fázisátmeneti) hőmérséklet 10^{o}C ($L_\alpha \rightarrow L_\beta$).

A lipid fázisok milyensége függ az egyes lipid speciesek alakjától is. Azok a tényezők, amelyek növelik a hidrofób/hidrofil térfogat arányát, elősegítik a kúpos alak kialakulását. Az ilyen lipideknek energetikailag a kifordult (inside-out) fázis a kedvező, azaz a H_{II}. Így érthető, hogy az MGDG nagyobb telítetlenség és kis fejcsoport térfogat mellett ezt a fázist részesíti előnybe. Ellentétben a hengeres alakzatú DGDG, PG és SQDG-vel, amelyek könnyebben vesznek fel lamelláris elrendeződést. A tilakoid membránok alakjában (görbületek) ezek a különbségek érvényesülnek.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

5.11.3. Fluiditás és a hőmérséklet

A hőmérséklet csökkenése (fagyáspont felett) a membránok lipidjeinek fázisátalakulását váltja ki $L_\alpha \rightarrow L_\beta$ irányba, ami a fluiditás csökkenésével jár együtt. Jó korreláció van a hőmérséklet és az L_β fázis megjelenése között, aminek hátterébe az acilláncok telítetlenségének mértéke áll. Minél magasabb a membrán acilláncainak telítetlensége, annál alacsonyabb hőmérsékleten következik be a fázisátmenet. De nemcsak ez az egyedüli tényező, ami befolyásolja a membránok fluiditását. Szabályozó tényezőnek látszik az aktuális lipid/protein arány is. A sztróma tilakoidok nagyjából azonos telítetlenségi szint mellett, magasabb lipid/protein arány mellett fluidabbak, mint a gránum tilakoidok.

5.11.4. Transzverzális lipid asszimetria

A membránok nemcsak laterális (horizontális) asszimetriát mutatnak. A két lipid réteg felépítése igen eltérő lehet. Az asszimetria létrehozásában elsősorban a transz-Golgi hálózat (TGN – trans-Golgi network) játszik szerepet, de a plazma membránban is van néhány fehérje, ami ebben közreműködik. Ilyen ATP kötő ABC transzporterek, amik foszfolipideket mozgatnak a belső lipid rétegből a külsőbe (flopping), ugyanakkor aminofoszfolipid transzlokázok visszaszállítanak lipideket a külső rétegből a belső rétegbe (flipping). Több ilyen flippázt izoláltak már, különböző specifitással.

5.11.5. A fotoszintetikus reakciócentrumok és a lipidek

Az utóbbi néhány évtizedben jelentős előrehaladás történt a reakció centrumok szerkezetének felderítésében, elsősorban röntgendiffrakciós vizsgálatokkal, melynek során kiderült, hogy egyes lipideknek milyen szerepe van a reakció centrumok felépítésében, illetve az optimális működés biztosításában.

A PSI reakció centrumban az ismert fehérje és nem-fehérje komponensek mellett, PSI monomerenként három molekula PG és egy molekula MGDG található. Ezek a lipidek a komplex integrális részei. Az MGDG és a PG-ek a PsaA és PsaB polipeptidhez (heterodimer core) szimmetrikusan kapcsolódnak, szorosan az elektron transzferben részt vevő kofaktorokhoz.

A PSII komplex felépítésében az SQDG és a PG egyaránt részt vesz, de a pontos elhelyezkedésük még nem tisztázott. Bíbor baktériumban (*Rhodobacter spheroides*) három lipidet írtak le a reakció centrum intramembrán felszínén, CL, PC és GGD (glukozil-galaktozil-diacilglicerid).

5.12. A lipidek katabolizmusa

A legtöbb növényben több, nagy aktivitású lipolitikus enzim található és ezeket alapvetően degradatív fehérjékként tartották számon. Jóllehet működésük több, funkcionálisan igen különböző anyagcsere utat nyitnak meg. A raktározott lipidek lebontása során, a szabaddá váló zsírsavak teljes oxidatív lebontása energiát, részleges lebontása szénvázat biztosít az embrió növekedéséhez. Ugyanakkor működésük stressz körülmények között, lehetővé teszi a membránok átépülését, módosítását. Termékeik részt vesznek szignalizációs folyamatokban és így a növény védekezőrendszerének részei. Súlyos vagy hosszan tartó stressz esetén részt vesznek a membránok degradációjában, a kompartmentizáció megszüntetésében és végül a sejt pusztulásában.

5.12.1. Lipázok

A lipáz fogalom, tágabb értelemben olyan enzimeket takar, amelyek lipideket és hosszú szénláncú acilésztereket hidrolizálnak („valódi lipázok”, acil-hidrolázok, acil-transzferázok).

5.12.2. Neutrális zsírok és olajok bontása

A „valódi lipázok” szubsztrátjai triacil-gliceridek (TAG). Ezek az enzimek mindenhol jelen vannak, ahol TAG raktározás van. Ilyen szövetek, illetve sejtek lehetnek magvakban, pollenben, továbbá egyes növények gyökereiben, valamint leveleiben. A valódi lipázok működését elsősorban csírázó magvakban tanulmányozták, ahol az enzim aktivitása a csírázás előtt nem mutatható ki. A csírázás kezdetén szintézise azonban rohamosan fokozódik, amely mögött a gibberellinek fényindukált szintézise, majd ezt követően az enzim hormon-indukált szintézise áll. Az

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

aktív enzim az olajtestek felszínéhez kötődik, amelyben szerepe van az olajtestek membránjaiban található fehérjéknek, az oleosinoknak.

A lipolitikus reakció végtermékei több köztes terméken keresztül, zsírsavak és glicerin. A szabaddá váló zsírsavak a glioxiszómákba jutnak és zsírsavoxidációs folyamatokon keresztül energiaforrásként szolgálva metabolizálódnak, illetve szénhidrátok építéséhez szénvázakat szolgáltatnak (lásd glioxálsav-ciklus). A folyamatban résztvevő kompartmentek, az olajtestek és a glioxiszómák, szoros közelségben helyezkednek el, vagy közvetlen kapcsolat is lehet közöttük, ami megkönnyíti a zsírsavak transzportját. A zsírsavak szállításában részt vehetnek lipid transzfer proteinek (LTP), vagy a szállítást végezheti maga a lipáz is. A „valódi lipázok” fajra, illetve a különböző zsírsavösszetételű saját neutrális lipidjeikre nézve eltérő specifitást mutatnak.

A lipolitikus enzimek másik csoportját az esetenként nagy aktivitású acil-hidrolázok alkotják. Ezek szubsztrátjai a legkülönfélébb lipidek – foszfo-, gliko-, szulfolipidek, acilszterolok–, amelyekről acilcsoportot hidrolizálnak le, de TAG-eket nem bontanak. Számos növényi szervben előfordulnak. A levélben előforduló acil-hidrolázok főként galaktolipázok. Az acil-hidrolázok szerepe elsősorban a lipidek zsírsavösszetételének átszervezésében, a lipidek turnover-ében jelentős, melynek során az aciltranszferáz reakciók kiegészítői. Különösen magas aktivitást mutatnak a növény azon életszakaszaiban, amikor intenzív lipid(membrán)átalakulás történik, mint például a zöldüléskor, amikor a prolamelláris testek szétesnek és új tilakoidális membránrendszer épül fel, vagy az öregedés során, amikor a lebomló vegyületek alkotó elemei a fiatalabb növényi részekbe transzportálódnak. A növényi szövetek sérülésekor, fertőzéskor lipoxigenáz-katalizált zsírsavoxidációs folyamatok során zsírsavláncokat tesznek szabaddá, amelyek oxidációja során számos másodlagos termékek képződnek, amelyek toxikusak a behatoló patogénekre nézve, vagy szignál molekulák és további védekezési reakciókat indítanak be.

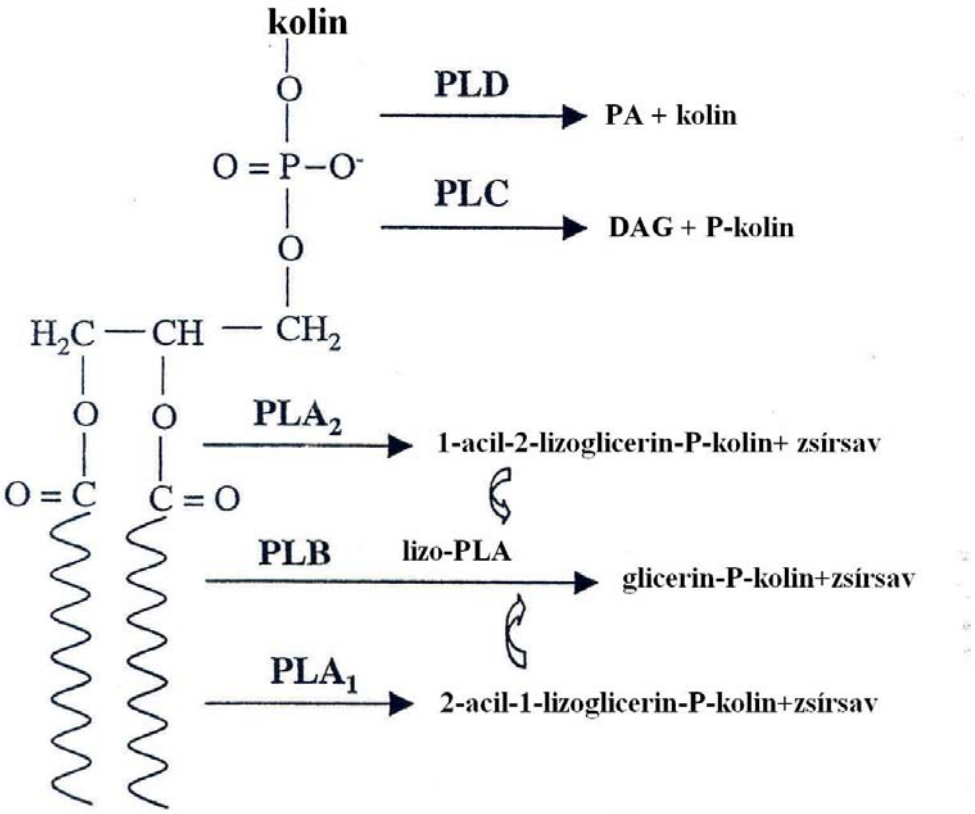
5.12.3. A viaszok bontása

A viaszok lebontása azon ritka esetekben jelentős, amikor azok raktározott tápanyagként vannak jelen a növényben. A lebontásért nem-specifikus lipázok felelősek. A növények elpusztulása után nagytömegű kutin, illetve szuberin kerül a talajba, amelyeket bakteriális szervezetek és gombák képesek lebontani. Míg a bakteriális degradáció alig ismert, a gombákban kutint bontó enzimeket, kutinázokat mutattak ki. Kutináz aktivitás található pollenszemekben is, ami lehetővé teszi, hogy a pollen tömlőt hajtva hidrolizálja a stigmát borító kutin réteget. A pollen enzimek fajspecifitása áll a növény bibéje és a rákerülő pollen inkompatibilitása mögött.

5.12.4. Poláros fejcsoportot tartalmazó lipidek bontása

Ezek a lipidek, elsősorban foszfolipidek, glikolipidek és szulfolipidek, nem változatlan alkotó elemei a membránoknak, turnover-ük elég magas és így a membránok poláros lipidjeinek zsírsav összetétele gyakran változik. Gyakrabban, mint maga az egész molekula. Ez a folyamat részben kapcsolatban áll a zsírsavláncok telítetlenségének változásával, ami a környezeti tényezők (hő-, hideg-, és sóstressz) változásaira adott válasz, aminek részeként megváltozhat a membrán lipid, illetve zsírsav összetétele és ezzel fiziko-kémiai tulajdonsága.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.24. ábra A különböző foszfolipázok hasítási pontjai. (PA – foszfatidsav, DAG – diacilglicerid, PL – foszfolipáz)

A foszfolipidek bontásában foszfolipázok működnek közre. A foszfolipáz A_1 (PLA_1) az 1. szénatomon lévő acilláncot, a PLA_2 a 2. szénatomon elhelyezkedő acilláncot hidrolizálja. A foszfolipáz B (PLB) mind a két helyzetben lévő acilláncot lehasítja. A foszfolipáz C (PLC) és a foszfolipáz D (PLD) foszfodiészterázok, az előbbi a glicerinfoszfát kötést, míg az utóbbi a poláros fejcsoport és a foszforsav közötti kötést bontja (**5. 24. ábra**). A keletkezett foszfatidsav foszfátcsoportját specifikus foszfatázok hasítják le. A reakció terméke foszfatidsav (PA) és kolin. Részt vehet transzfoszfatidálásban is, ilyenkor a kolin helyére alkohol, pl. etanol kapcsolódik, és a termék PE. Szerepük a membrán lebontásban és átépülésben, csírázó magvakban a membránok proliferációjának, degradációjának elősegítésében, stressz körülmények között többszörösen telítetlen zsírsavak szabaddá tételében (lipoxigenáz-katalizált reakciók) van. A foszfolipáz C (PLC) membrán-kötött formája a plazmamembránban a PI bontását katalizálja. Termékei az inozitolfoszfátok és a diacilglicerid (DAG), amelyek transzmembrán szignalizációs folyamatokban vesznek részt.

5.12.5. A lipid lebontás oxidatív folyamatai

A mag raktározószöveteiben, az endospermiumban és a sziklevélben felhalmozódott zsírok és olajok lipolitikus lebomlása során keletkezett zsírsavak és a glicerin felhasználására több lehetőség kínálkozik.

A lipidek lebomlása során képződő glicerin, glicerin-foszfáton keresztül, dihidroxi-aceton-foszfáttá (DHAP) alakul a citoszólban NAD-, a mitokondriumban FAD-specifikus dehidrogenázzal. A DHAP Fr-1,6-BP-tá, majd szaharózzá alakulhat a glikolízis reverzibilis lépésein keresztül (glukoneogenezis) vagy piroszőlősav képződik, amely a trikarbonsav-cikluson át mitokondriálisan eloxidálódhat. Ez utóbbi út főként az olajos magvak raktározószöveteiben aktív amellett, hogy a szaharóz reszintézis folyamatos. A zsírsavak eloxidálására több lehetőség van és a kiindulási szubsztrát szabad zsírsav vagy aktivált aciltioészter lehet. Típusai α-, β-, ω-oxidáció, láncközi hidroxiláció (oxidáció) és lipoxigenáz-katalizálta reakciók. A folyamatok főbb jellemzőit a **3. táblázat** tartalmazza.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

5.12.5.1. Az α-oxidáció

Ez a növények raktározószöveteiben és fiatal leveleiben kimutatható oxidációs út, amely az ER membránjaihoz kötött és szubsztrátja szabad zsírsav. Leghatékonyabban hosszú, egyenes láncú telített zsírsavak esetében működik ($C_{12} < C_{14} > C_{16} > C_{18}$ sorrendben), de telítetlen C_{18}-as zsírsavakat is felhasznál. A szénlánc minden ciklusban oxidatív dekarboxiláció során az α-szénatommal rövidül. A folyamat végbemehet peroxidatív dekarboxilációval is, amelyhez flavoproteinek szükségesek, majd a képződött aldehid NAD-specifikus dehidrogenáz révén a megfelelő zsírsavvá alakul, amely a ciklust folytatva további α-oxidációt szenved. Ha az oxidációban közvetlenül molekuláris oxigén vesz részt, átmeneti termékként 2-D-hidroxizsírsavak és aldehidek képződnek. Az utóbbiak NAD-függő aldehid-dehidrogenázzal a megfelelő zsírsavvá oxidálódnak, majd dekarboxileződnek.

5.3. táblázat A zsírsav oxidáció típusai

oxidációs folyamat	**szubsztrát**	**termékek**	**oxidáns**
α-oxidáció	szabad zsírsav	2-hidroxiperoxizsírsav 2-hidroxizsírsav	O_2
β-oxidáció	acil-tioészter	acetil-CoA propionil-CoA	NAD^+/FAD^+
propionil-CoA oxidáció	propionil-CoA	acetil-CoA	
ω-oxidáció	szabad zsírsav	Ω-hidroxizsírsav dikarbonsav	O_2
láncközi oxidáció	acil-tioészter	különböző oxidált zsírsavak	O_2
lipoxigenáz-katalizált peroxidáció	konjugált szabad zsírsav	hidroperoxi zsírsavak oxosavak, különböző fragmentált termékek	O_2

Korábban úgy tűnt, hogy az α-oxidáció jelentéktelen szerepet tölt be a zsírsavak ß-oxidációs lebontása mellett. Azonban fiatal levelekben az α-oxidáció aktívabb, ami annak az előnynek tulajdonítható, hogy szabad zsírsavat használ és nem aktivált tioésztert. A növényben lévő 2-D-hidroxisavak is az α-oxidáció során képződnek, hasonlóan a páratlan szénatomszámú zsírsavakhoz. Az α-oxidáció hatékonyan használható olyan zsírsavak lebontásánál, amelyek láncközi metil oldalláncot tartalmaznak, mint például a fitol-lánc, amely egyébként akadálya a β-oxidációs folyamatoknak.

5.12.5.2. A β-oxidáció

A zsírsavak jelentős része a β-oxidáció lépésein keresztül bomlik le. A folyamat elsősorban a csírázó magvak glioxiszómáiban játszódik le. A β-oxidáció enzimkomplexe és a zsírsav aktiváló enzim (acil-CoA szintetáz) membránkötött állapotban található. Míg az idősebb, glioxiszómát nem tartalmazó szövetekben a β-oxidáció peroxiszómákban zajlik, addig az állati sejthez hasonlóan, a β-oxidáció működését növényi mitokondriumban nem sikerült egyértelműen igazolni.

A β-oxidáció alapvető szerepe a hatékony energia felszabadítás, jól metabolizálódó köztitermék, az acetil-CoA előállításával, amely a glioxalát-cikluson, illetve a trikarbonsav-cikluson keresztül hasznosulhat. Az ATP szintézise az oxidációs lépések során képződő redukált koenzimek visszaoxidálásával megy végbe (lásd 4. fejezet). A jól transzportálható metabolit, a szaharóz szintézise elsősorban a glioxalát-ciklus közreműködésével, majd a glükoneogenezist követően megy végbe. A csírázó magvakban folyó β-oxidáció másik jelentősége a szénvázak előállításában van mindaddig, míg a fotoszintézis beindul. Amíg a mitokondriális β-oxidáció NAD-t és flavoproteineket használ, a glioxiszómális rendszer ettől két vonatkozásban tér el: A flavoproteinek az acetil-CoA-dehidrogenáz katalizálta lépésben redukálódnak és közvetlenül molekuláris oxigénnel oxidálódnak vissza H_2O_2 képződése mellett, amelyet aztán a kataláz eliminál. A 2-hidroxiacil-CoA oxidációja során keletkezett $NADH_2$

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

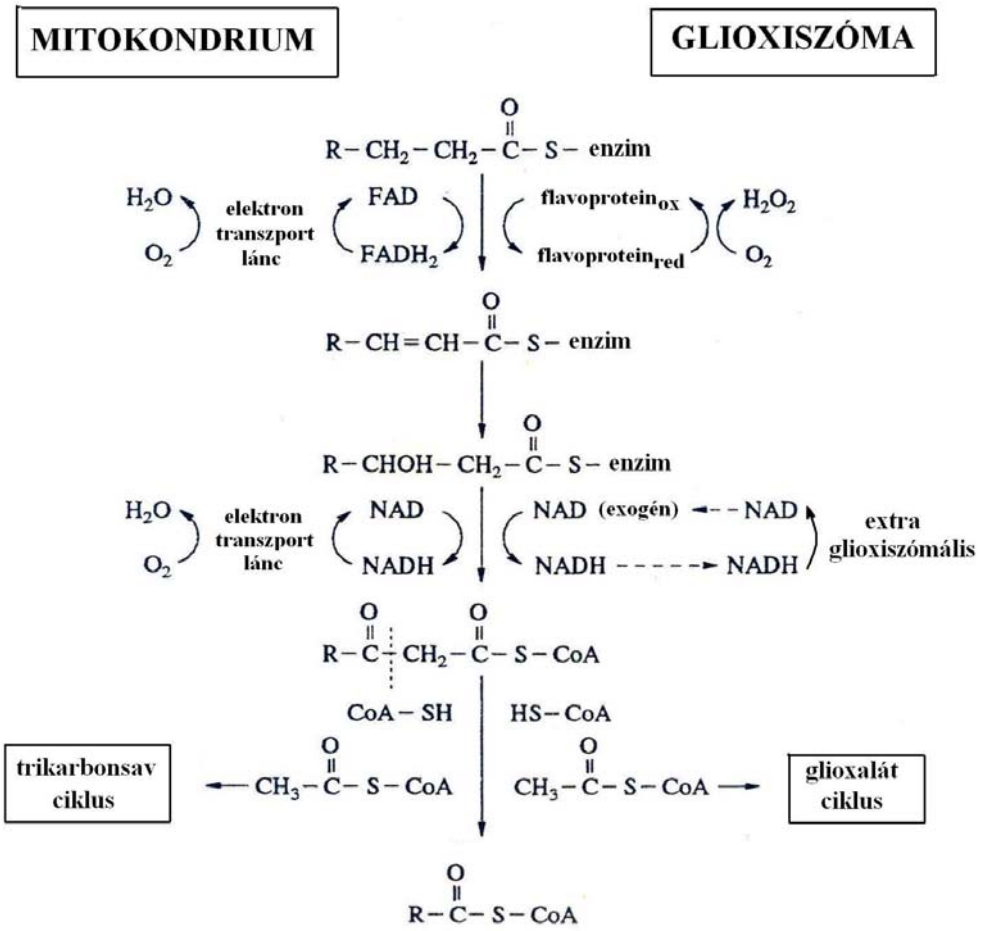
nem a glioxiszómában reoxidálódik, hanem egy külső NAD/NADH redox rendszeren keresztül a mitokondriumban (**5.25. ábra**).

A β -oxidáció lépései:

A folyamatot egy zsírsav aktiválása vezeti be, ami ATP-t és Mg^{2+}-t igényel.

R-COOH + ATP + HS-CoA → R-CO-S-CoA + AMP + PP $_i$

Az enzim az acil-CoA-szintetáz.



5.25. ábra A β-oxidáció lépései

A további lépések során a tioészter kötés állandóan megmarad, és a zsírsav lánca egy-egy oxidációs ciklus alatt egy-egy C_2 taggal rövidül. Az aktivált zsírsavat a FAD-tartalmú zsírsav-acil-CoA-dehidrogenáz(oxidáz) redukálja a megfelelő telítetlen származék keletkezése mellett (a $FADH_2$ reoxidációt lásd előbb). A telítetlen zsírsav-acil-CoA vizet vesz fel az enoil-CoA-hidratáz enzim közreműködésével és a megfelelő hidroxisav képződik. A β-hidroxisavat NAD-specifikus dehidrogenáz, a β-hidroxiacil-CoA-dehidrogenáz oxidálja a megfelelő keto-származék keletkezése mellett ($NADH_2$ reoxidációt lásd korábban). Az utóbbi két enzimaktivitás egy enzimen található. A β-ketosav ún. tioklasztikus bomláson megy keresztül, ß-keto-acil-tioláz enzim és CoA-SH jelenlétében. Acetil-CoA és egy C_2 fragmentummal megrövidült zsírsav-acil- CoA képződik. Így a végtermék az oxidációs ciklus során, majd a zsírsav láncának teljes fragmentálódása után is acetil-CoA, amely az adott kompartmentnek megfelelően hasznosul.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

5.12.5.3. Módosított β-oxidációs mechanizmusok

A klasszikus β-oxidáció egyenes láncú, telített, közönséges zsírsavak (a lánc hossz >3) eloxidálására van kitalálva. A zömmel *cis*-konfigurációjú kettős kötés akadályt képez a β-oxidáció számára. Ilyen akadály még a láncközi OH– vagy C=O csoport előfordulása a páros szénatomon, de gátat jelentenek a láncközi elágazások is. A zsírsav lebontása az akadályt jelentő pontig halad, majd a gátat elhárító mechanizmusok közreműködése után folytatódik. Így a különböző szerkezetű zsírsavak teljes lebontása végül is egy módosított β-oxidációval mehet végbe.

5.12.5.4. A propionsav lebontása

A páratlan szénatomszámú zsírsavak β-oxidációjának végső terméke propionil-CoA, aminek további lebontása során acetil-CoA és CO_2 keletkezik. A folyamat alapvetően a peroxiszómákban játszódik le.

A β-oxidáció során az egyedüli végtermék az acetil-CoA, amelynek hasznosulása alapvetően két féle lehet:

- glioxiszómális β-oxidáció esetén az acetil-CoA alapvetően a glioxalát-ciklusban használódik fel, ami a csírázó olajos magvakra jellemző, illetve öregedő szövetek sejtjeiben is előfordul.
- A peroxiszómális β-oxidáció során képződő acetil-CoA molekula exportálódik a peroxiszómából és főként a mitokondriumban hasznosul.

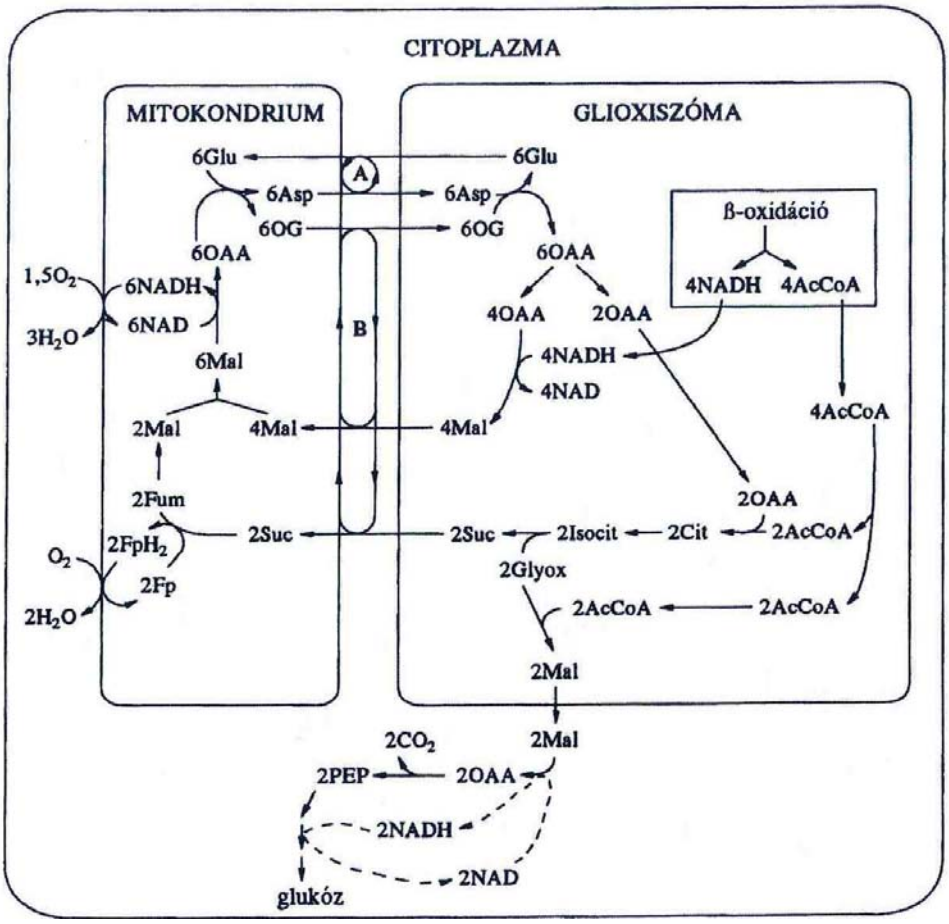
5.12.5.5. Mitokondriális β-oxidáció

Állati sejtben az acil-CoA nem tud átjutni a mitokondrium borítómembránján, ezért acil-karnitin formájában transzportálódik (acil-CoA + L-karnitin □ acil-karnitin), majd egy második karnitin aciltranszferáz alakítja az acilcsoportot acil-CoA-vá. A karnitint és a karnitin aciltranszferázt is kimutatták már növényi mitokondriumban, így a β-oxidáció a növényi mitokondriumban lehetségesnek tűnik, de eddig egyértelműen még nem bizonyított.

5.12.6. A glioxalát-ciklus

A glioxalát-ciklus szintetikus jellegű folyamat, amely két acetil-CoA molekulát fogad, és egy ciklus során egy borostyánkősavat állít elő, amely elhagyja a glioxiszómát és végül a glukoneogenezis lépésein keresztül cukor reszintézisre fordítódik (**glukoneogenezis**). Az eközben lezajló lépések során létrejövő intermedierek szénvázai további szintetikus folyamatok kiindulópontjai lehetnek. A glioxalát-ciklus működéséhez a glioxiszóma, a citoplazma és a mitokondrium együttműködésére van szükség. A ciklus lényeges lépései a glioxiszómában zajlanak, azonban a glutaminsav/aszparaginsav és az α-ketoglutársav transzporter rendszereken keresztül tetemes anyagtranszport zajlik le a glioxiszóma és a mitokondrium között. A glioxiszómában végbe menő β-oxidáció terméke, az acetil-CoA, a citrát-szintetáz segítségével OAA-val lép reakcióba és citromsav keletkezik. A citromsav akotináz enzimmel izocitromsavvá alakul, majd a glioxiszóma-specifikus izocitráz (izocitromsav liáz) az izocitromsavat glioxálsavvá és borostyánkősavvá bontja. A glioxálsav egy másik molekula acetil-CoA-val almasavvá alakul malát-szintetáz segítségével. A továbbiakban malát-dehidrogenázzal OAA jön létre. Az OAA visszatérhet a ciklusba, vagy PEP-vá alakulva a glukoneogenezis kiindulópontja is lehet (**5.26. ábra**).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.26. ábra A glioxalát-ciklus lépései. (A – glutaminsav/aszparaginsav szállító rendszer, B - α-ketoglutársav szállító rendszer, AcCoA – acetil-CoA, Asp – aszpartát, Cit – citrát, Fp – flavoprotein (borostyánkősav dehidrogenáz), Fum – fumársav, Glu – glutamát, Glyox – glioxalát, Isocit – izocitrát, Mal – almasav, OAA – oxálacetát, OG – α-ketoglutársav , PEP – foszfoenolpiroszőlősav, Suc – borostyánkősav)

A β-oxidáció energiamérlegében a redukált koenzimek visszaoxidálása lényeges lépés. Két különböző mechanizmus transzportálja a redukáló ekvivalenseket a glioxiszómából a mitokondriumba: az almasav – aszparaginsav, glutamát – oxoglutarát átalakulás (shuttle) és egy elektrontranszport rendszer, ami a glioxiszóma membránjában van. A két út, az elektrontranszport és az almasav – aszparaginsav shuttle párhuzamosan és alternálva is működhet.

5.12.7. Lipoxigenázok

Az intracelluláris lipidek turnovere és összetétele, különösképpen a membránoké, gyakran módosul a növény fejlődése során és sokszor elsődleges célpontja a környezeti változásoknak. A lipid(zsírsav) összetétel változásának egyik fontos momentuma a *cis-cis*-1,4-pentadién struktúrákat tartalmazó, többszörösen telítetlen zsírsavak, pl. linolsav, illetve a linolénsav peroxidációja. Ez a folyamat, eltekintve az autooxidációtól, egy enzimcsalád, a **lipoxigenázok** (LOX), az α-dioxigenázok (α-DOX), illetve a leukotrién szintáz aktivitásának következménye. Fiziológiai körülmények között a LOX reakciók vannak túlsúlyban. A multifunkcionális lipoxigenázok működésének következményeképpen számos oxidált lipidszármazék képződik, amelyeket összefoglalóan **oxilipine**knek neveznek. A peroxidációs lépést és az azt követő további folyamatokat együttesen nevezik **LOX-út**nak (**5.28. ábra**). A folyamat nem-öregedő, egészséges növényben, ellentétben több más lipidoxidációs mechanizmustól, nem katabolikus jellegű, hanem számos, a növény életében fontos szerepet betöltő molekulát állít elő. Az oxilipinek valójában lipofil szignál molekulák, amelyek a kezdeti peroxidációt követően, további elágazó reakciósorokon keresztül, számos oxilipin csoportot adnak. Ezek között a vegyületek között előfordulnak fitohormonok (jázmonátok) és számos egyéb más vegyület, közöttük hidroxi-, oxo-, vagy ketozsírsavak, illékony aldehidek (másodlagos messengerek a szervezetek közötti szignalizációban), baktericid, és fungicid hatású molekulák. Az oxilipinek változatosságát növeli, hogy tovább észteresednek plasztisz eredetű glikolipidekkel, vagy konjugálódnak aminosavakkal, illetve más metabolitokkal.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

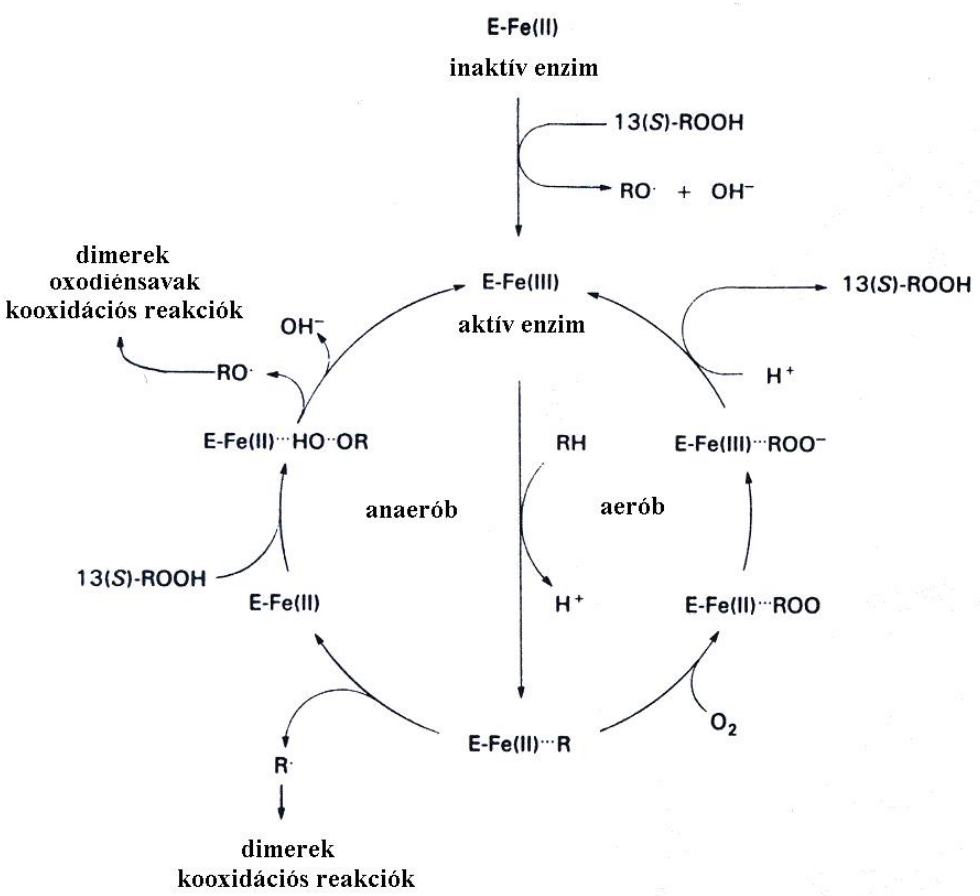
A lipoxigenázokat eredetileg hüvelyesekben mutatták ki, majd széleskörű elterjedtségüket folyamatosan igazolták. Megtalálták őket csírázó magvakban és ezek hipokotiljában, levelekben, gyümölcsökben és raktározó szövetekben. A sejten belüli lokalizációjuk változatos. Különböző LOX izoformok vannak a citoplazmában, a vakuólumokban, de előfordulnak a mikroszómális membránokban, a plazmamembránban, a kloroplasztisz borító membránjában, sőt a kloroplasztiszok tilakoidjaiban is.

5.12.7.1. A lipoxigenáz enzimek működése

A LOX enzimeket multigén családba szerveződött gének kódolják, pl. az *Arabidopsis*-ban 6, a burgonyában (*Solanum tuberosum*) 14 géncsalád található.

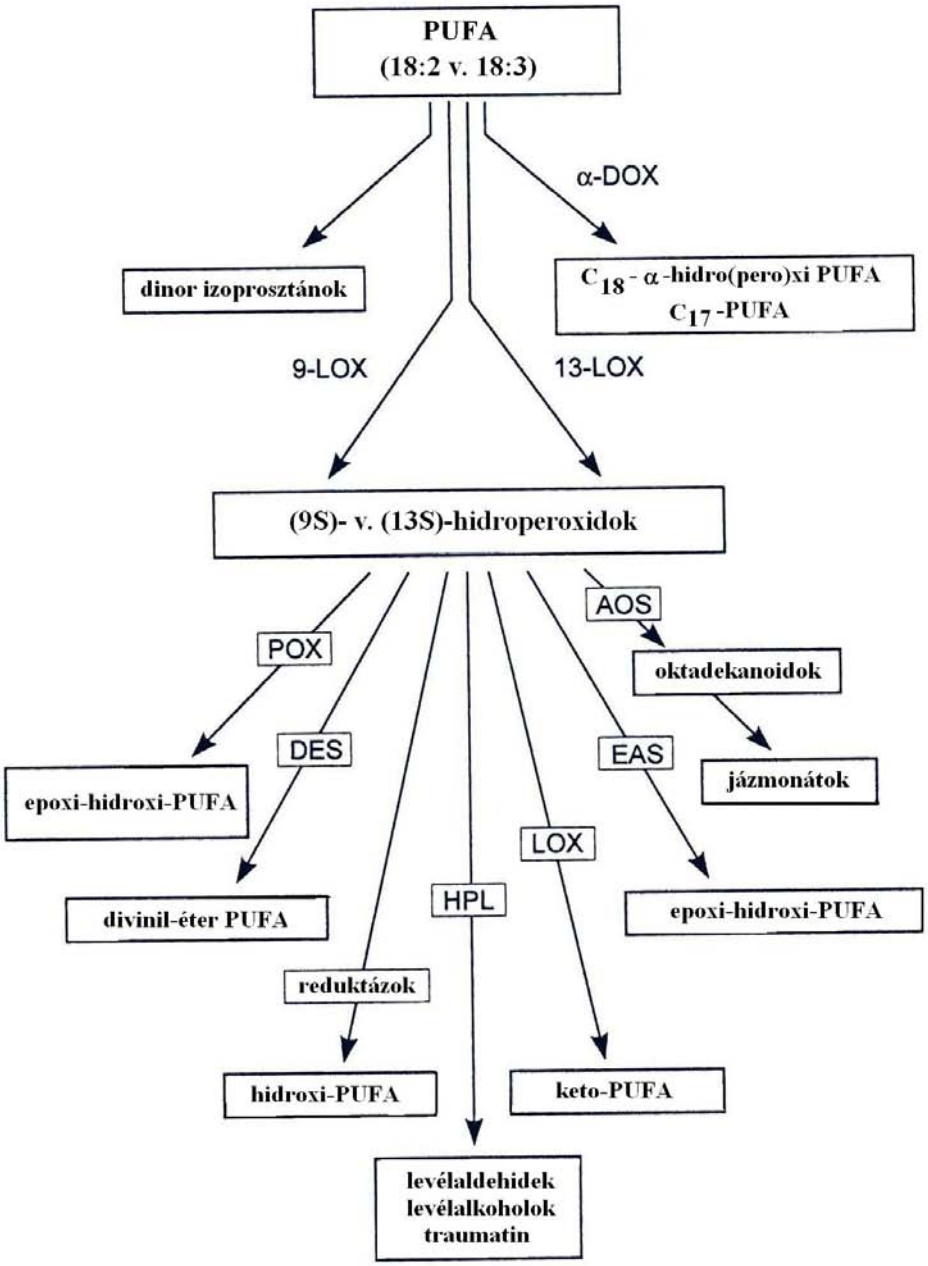
A lipoxigenáz enzim számára a fő szubsztrát szabad zsírsav: linolsav, linolénsav, amik legtöbbször foszfolipidekből származnak. A LOX-enzim általában egy nem-hem Fe-atomot tartalmaz, amelynek a reakció előtt oxidálódnia kell Fe^{3+}-á. Az oxidáció megtörténhet a saját hidroperoxid termékeivel is, pl. (13*S*)-hidroperoxi-linolénsavval. A reakció során, a szubsztráttal való kapcsolódás után egy sztereospecifikus (11-*pro*-*S*-hidrogén) H-elvonás történik a C_{11}-es metilén csoportról, majd átrendeződés után egy C_{13}-as gyök képződik, és elektrontranszfer történik a LOX vasára, ami Fe^{2+}-vé redukálódik. Ha 11-*pro*-*R*-hidrogén elvonás történik, akkor a C_9-en keletkezik gyök. Ezután a gyökök O_2-vel reagálnak és lipid peroxid gyökök jönnek létre, amelyek hidroperoxiddá redukálódnak és a termékek (9*S*)-hidroperoxi, illetve (13*S*)-hidroperoxi származékok lesznek. A LOX vasa Fe^{3+}-á oxidálódik és a termék leválik az enzimről. A folyamat vázlatos menetét lásd az **5.27. ábrán**.

A sztereospecifikus O_2 addíció az enzim azon képességétől függ, hogy a szubsztrát metil, vagy karboxil végét ismeri fel.



5.27. ábra. A szója lipoxigenáz reakciómechanizmusa aerób és anaerób körülmények között

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



5.28. ábra Az oxilipinek bioszintézisének különböző útjai. (AOS – allénoxid szintáz; AOC – allénoxid cikláz; DES – divinil-éter szintáz; α-DOX - α-dioxigenáz; EAS – epoxi-alkohol szintáz; HPL – hidroperoxid liáz; LOX – lipoxigenázok; POX – peroxidáz; PXG – peroxigenáz; PUFA – többszörösen telítetlen zsírsavak – poliunsaturated fatty acids)

5.13. A környezet hatása a membránok szerkezetére és összetételére

5.13.1. A lipidösszetétel változása a növény egyedfejlődése során

A lipid (zsírsav) összetétel és tartalom, valamint a különböző lipidek aránya jelentősen változhat a növény növekedése, fejlődése, majd öregedése során. Ezekben a változásokban belső tényezők, mint genetikai tényezők, és a külső tényezők egyaránt szerepet játszanak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

5.13.2. A környezeti tényezők hatása a lipidanyagcserére

A különböző és változó környezeti feltételek hatással vannak a növény membránjainak szerkezetére, viselkedésére. Változások állhatnak be lipidek és zsírsavaik összetételében, a zsírsavak telítetlenségi szintjében, a membránok fluiditásában, a membrán domének szerveződésében, az ionpermeabilitás, a hidratáltsági állapot, a lipid/protein arány változásában, ami érinti a membránproteinek és a lipidek kölcsönhatásait, és végül a membrán működését.

5.13.2.1. A fény szerepe a lipidanyagcserében

A fény hatása alapvetően két irányban érvényesülhet: a fotoszintézis folyamatain keresztül közvetetten, vagy közvetlenül, fotoreceptorokon (fitokróm, kék-fény receptor) keresztül.

A zsírsavszintézishez a kloroplasztiszban a fotoszintézis által termelt ATP és NADPH szükséges. A linolénsav bioszintézise kismértékben sötétben is megfigyelhető, de a folyamat sebessége fényen jelentősen megnő. Úgy találták, hogy szintézise szorosan összefügg a klorofillszintézis sebességével. Erős lipofil kölcsönhatás van a klorofillok fitollánca és a linolénsav között, ami a fotoszintetikus membránok felépülése során regulációs lépés lehet. Hasonló a helyzet a szulfolipidek bioszintézise és beépülése esetén is. Jellegzetesen magasabb a szulfolipidek mennyisége a két fotokémiai rendszer reakciócentrumának közvetlen környezetében, ami arra utal, hogy a sajátos lipid mikrokörnyezet feltétele a fotoszintetikus funkciók megvalósulásának. Fotoszintetizáló szövetekben a kloroplasztisz membránjai *transz*-Δ3-hexadecénsavat tartalmaznak, melyek a glicerin 2. pozícióját észteresítik a PG-ben. Ez a lipid fontos szerepet játszik a 2. és az 1. fotokémiai rendszer fénygyüjtő pigment-protein komplexeinek szupramolekuláris organizációjában. Ismert, hogy különösen az LHC-II apoproteinjeinek szintézise a fitokróm rendszer kontrollja alatt áll, így a fény közvetve befolyásolhatja az LHC-kel közvetlen struktúrális kapcsolatban lévő lipidek beépülését, illetve szintézisét is. Olyan enzimeket is találtak, amelyek fény-indukálta aktivitásnövekedést mutattak, mint például a linolsav-linolénsav átalakulásban résztvevő deszaturáz esetében.

Az etiolált növény leveleiben is folyik zsírsavszintézis, de többszörösére emelkedik a fény hatására, ami arra utal, hogy egy, vagy több fehérje szintézise fény-indukált folyamat, mint például az ACP-ek szintézise. Továbbá megfigyelhető, hogy a zsírsavszintézis akciós spektruma jó fedésben van az 1. fotokémiai rendszer abszorpciós spektrumával, ami arra utal, hogy részben az ATP szintézis (ciklikus fotofoszforiláció), részben a ferredoxin-tioferredoxin rendszer enzimműködést szabályozó szerepe érvényesül a zsírsavszintézis sebességének szabályozásában.

5.13.2.2. Hidegstressz hatása a membránlipidekre

A hideg (fagy)stressz következménye, hogy a membránok, különösen a plazmamembránok egy adott, kritikus hőmérsékleten szerkezeti és ebből következően funkcionális változást szenvednek. Csökken a membránok fluiditása, fázisátalakulások következnek be, az addig folyadék-kristályos állapotú lipid matrixban elkülönül egy szilárd-gél fázis, a membrán-kötött folyamatok sérülnek, fotooxidatív és lipoxigenáz-katalizált folyamatok lépnek fel, és a membránok dezintegrálódnak.

Számos kísérlet eredménye azt mutatja, hogy a hideg/fagytűrés szempontjából alapvető szerepet a plazmamembrán állapota és változásai játszanak, amelyet a membránban lévő receptorok érzékelnek és közvetítenek (pl. G-protein-kapcsolt kinázok). Az ezekhez kapcsolódó szignalizációs utak (foszfolipid-, MAPK-, ROS-indukált kaszkád) számos válaszreakciót váltanak ki, amik a hideg(fagy)stressz hatásait hivatottak kivédeni. A membránokat érintő válaszok: dehidrin fehérjék, deszaturázok, LTP-k, terpenoidok (pl. ABA) szintézise. Az eredmény: a membránok telítetlenségi szintjének növekedése, a membránösszetétel változása (zsírsav, fejcsoport), a passzív membránpermeábilitást csökkentő szterolok beépülése. A kloroplasztiszok tilakoid membránjainak a hidegérzékenysége a legkisebb, ami a gliko(galakto)lipidek alacsony fázisátváltozási hőmérsékletével magyarázható.

A hidegtűrés fiziológiai alapjának és ezzel összefüggésben a membránok szerkezetének és állapotváltozásainak, valamint szabályozási folyamatainak felderítése lehetővé teheti, hogy számos fontos gazdasági növény hidegérzékenysége csökkenthető legyen, ami elősegítheti hidegebb klimatikus területeken történő termesztésüket.

5.13.2.3. Sóstressz hatása a membránokra

A környezet magas sókoncentráció szenzorának a plazmamembránban lévő Na^+/H^+-antiportereket tartják. A válaszreakció során megnő a plazmamembrán és a tonoplaszt szabad szterol tartalma. Ezek hatásosnak bizonyultak

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

a lipid membrán stabilitásának és a passzív ionpermeabilitás redukciójának szabályozásában. Sótűrő növényeknél, mint például a *Plantago maritima*-nál és a *P. coronopus*nál magas a szterol/foszfolipid arány.

5.13.2.4. A hő- és szárazságstressz hatása a membránokra

A két stressz hatását nehéz elkülöníteni, mert általában együtt érvényesülnek. Az érzékelésben a plazmamembránban lévő ozmoszenzorok (transzmembrán hisztidin kinázok) működnek közre, a kiváltó ok főképpen a membrán hidratáltságának csökkenése, továbbá jellemzően nő a membrán fluiditása, csökken a membrán-kötött fehérje partikulumok aktivitása, majd protein denaturáció következhet be. A membránokat érintő válaszok során fokozódik a passzív vízfelvétel (akvaporinok szabályozása, szintézise), másodlagos anyagcsere termékek szintetizálódnak: karotinoidok, tokoferolok, ABA.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

6. fejezet - Nitrogén- és kénautotrófia

szerző: Dr. Sárvári Éva

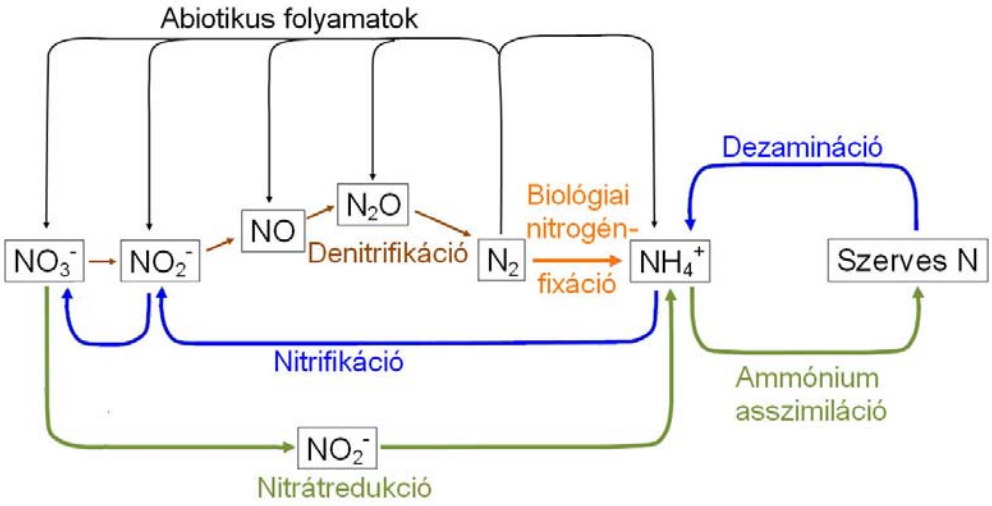
A nitrogén- és kénautotrófia a szervetlen N- és S-vegyületek asszimilációjára való képesség. A szervetlen nitrogén és kén a természetben leggyakrabban oxidált formában fordul elő, míg többnyire redukált formában van jelen az élő szervezetekben. Asszimilációjuk a szervetlen vegyület felvételét, szállítását, redukcióját, majd a redukált forma beépítését, szállítását, tárolását foglalja magában. Mivel a redukciós folyamat nagyon energiaigényes, általában olyan sejtkompartmentben történik, ahol nagymennyiségű energia és redukálóerő áll rendelkezésre. Szervetlen N- és S-vegyületek asszimilációjára a növényi szervezetek, valamint gombák és baktériumok (fotoszintetizáló vagy kemoszintetizáló szervezetek) képesek.

6.1. A nitrogén asszimilációja a növényekben

A természetben a N igen sokféle formában (oxidációs állapotban) fordul elő. A légkörben N_2(0), NH_3(-3), és különböző nitrogénoxidok (N_2O – dinitrogénoxid, +1; NO – nitrogénmonoxid, +2; NO_2 – nitrogéndioxid, +4) vannak jelen, a talajban és a vizekben pedig NO_3^- (+5), NH_4^+ (-3) és oldott N_2 található. Az élő szervezetekben a N a negyedik leggyakoribb elem (C, H, O, N). Számos szerves vegyület (aminosavak, nukleotidbázisok, hormonok, klorofill, stb.) tartalmazza -3-as oxidációs állapotban.

A nitrogén biogeokémiai ciklusát (**6.1. ábra**) a növényi szervezetek szempontjából tekintve, a szerves nitrogén elsődleges forrása a légkörben lévő N_2, bár **biológiai nitrogénfixáció**val történő hasznosítására csak prokarióta élőlények képesek (~170 Tg nitrogén $év^{-1}$). A nitrogén fixációjakor NH_3 keletkezik, ami oldott állapotban NH_4^+ formában van jelen. Az NH_4^+ azután szerves vegyületekbe épül be (**ammónium-asszimiláció**). A legtöbb autotróf élőlény számára azonban a talajoldatban oldott NO_3^- a fő szervetlen nitrogénforrás: a NO_3^--t a **nitrátredukció** során NH_4^+-vá redukálják, amit azután szerves vegyületekbe építenek be (~1200 Tg nitrogén $év^{-1}$). Emellett, különböző mértékben, az NH_4^+-t is képesek hasznosítani. Természeti (abiotikus) folyamatok eredményeként is kerülhet a talajba kis mennyiségű NO_3^- és NH_4^+ (a vízgőzből és a levegő oxigénjéből villámlás, tüzek, kozmikus sugárzás hatására keletkező O és H atomok, valamint hidroxil gyökök a molekuláris nitrogénből ammóniát, nitrogénoxidokat hoznak létre, amelyek az esővel jutnak a talajba), de a legfontosabb forrás az élőlényekben felhalmozott nitrogén reciklizációja. A reciklizáció folyamán a talajba jutó szerves hulladék/elpusztult élőlények nitrogénje a gombák és baktériumok metabolikus folyamatai (ammonifikáció, nitrifikáció) révén nitráttá alakul. Az **ammonifikáció** (dezaminációval) a szerves szén felhasználása, míg az aminocsoportokból képződő ammónia felszabadul. A **nitrifikáció** a felszabadult ammónia oxidációja nitritté, majd nitráttá, és a képződő redukáló ekvivalensek felhasználása szintézisekre. A fejlett országokban a talaj nitrogénellátottságát jelentősen növeli a műtrágyázás (**kémiai nitrogénfixáció** eredménye) is (~80 Tg nitrogén $év^{-1}$). Az ammonifikáció során képződő NH_3 **volatilizáció**ja (a légkörbe történő kijutása, ~100 Tg nitrogén $év^{-1}$) és a savas, nem jól szellőző talajokban folyó **denitrifikáció**s folyamatok (nitrát légzés, a nitrát a légzési lánc végső akceptora, redukciójakor nitrogénoxidok/N_2 keletkeznek, ~200 Tg nitrogén $év^{-1}$) jelentős veszteséget eredményezhetnek. A veszteséghez hozzájárul a $\mathbf{NO_3^-}$ talajból való könnyű **kimosódás**a is (~40 Tg nitrogén $év^{-1}$).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



6.1. ábra A nitrogén körforgalma.

A szervetlen tápelemek közül a N limitálja leggyakrabban a növény növekedését. A növények autonóm (adaptáció, pl. nagyobb affinitású transzporterek) és asszociációs mechanizmusok (növekedést elősegítő baktériumok, mikorrhiza, nitrogénfixáló szimbiózisok) révén biztosíthatják nitrogén-szükségletüket. A legfontosabb nitrogénforrások a NO_3^- és az NH_4^+, illetve egyes, prokariótákkal szimbiózisban élő növények a N_2-t is képesek felhasználni. A talajban lévő aminosavakat is fel tudják venni a növények, de ezek nagy részét, a lassú diffúzió során, a talajban lévő mikroorganizmusok felhasználják. Jelentősége a magasabban fekvő, hideg helyeken lehet, ahol a szerves anyag mineralizációja lassú. A N-túltáplálás a volatilizációt és denitrifikációt növeli, ami környezetszennyező, mivel ammónia és nitrogénoxidok kerülnek a levegőbe. A N-hiány viszont erősen csökkenti a produkciót, és új fajok invázióját eredményezi (pl. N-fixáló ausztrál *Acacia* spp. elterjedése Dél-Afrikában). Mező-/erdőgazdasági szempontból is fontos tehát a nitrogén-asszimiláció folyamatainak mind teljesebb megismerése.

6.1.1. Nitrogénfixáció

A légköri nitrogén, mint N-forrás felhasználására csak prokarióta, un. **diazotróf** szervezetek képesek. E szervezetek egy része **szabadonélő**, mint a heterotróf, anaerob archebaktériumok (*Methanococcus*) és az anaerob (*Clostridium*), fakultatív anaerob (*Klebsiella*), mikroaerob (*Azospirillum*) és aerob (*Azotobacter*) baktériumok, valamint autrotróf kemoszintetizáló (*Thiobacillus*) és fotoszintetizáló bakteriális szervezetek (*Rhodospirillum*, *Chlorobium*, továbbá az egysejtű és fonalas kékbaktériumok). A szabadonélő szervezetek nitrogénfixációs hatékonysága kismértékű (~1 kg nitrogén ha^{-1} $év^{-1}$), kivéve a kékbaktériumokét (~30-50 kg nitrogén ha^{-1} $év^{-1}$). Nagyobb hatékonyságú a szimbiotikus nitrogénfixáció (~10-350 kg nitrogén ha^{-1} $év^{-1}$), amikor nitrogénfixáló prokarióták **endoszimbiózis**ban (görög: együttélni valamivel annak a belsejében) élnek különböző növényekkel. Ezek közt vannak *Rhizobium* (α-proteobaktérium)-*Fabaceae*/*Ulmaceae* szimbiózisok, a *Frankiaceae* családba tartozó prokarióták (*Frankia*, Gram-pozitív, hifaképző aktinobaktériumok) fás növényekkel (*Betulaceae*, *Casuarinaceae*, *Myricaceae*) való együttélése (pionír növények), vagy a fonalas kékbaktériumok (*Nostoc*, *Anabaena*) igen különböző rendszertani kategóriába tartozó növényi szervezetekkel (páfrányok, nyitva- és zárvatermők) alkotott szimbiózisai.

A nitrogénfixáció során a N_2-ből ammónia keletkezik, amit H_2-fejlődés is kísér:

$$N_2(0) + 16ATP + 8e^- + 8H^+ \rightarrow 2NH_3(-3) + H_2 + 16ADP + 16P_i$$

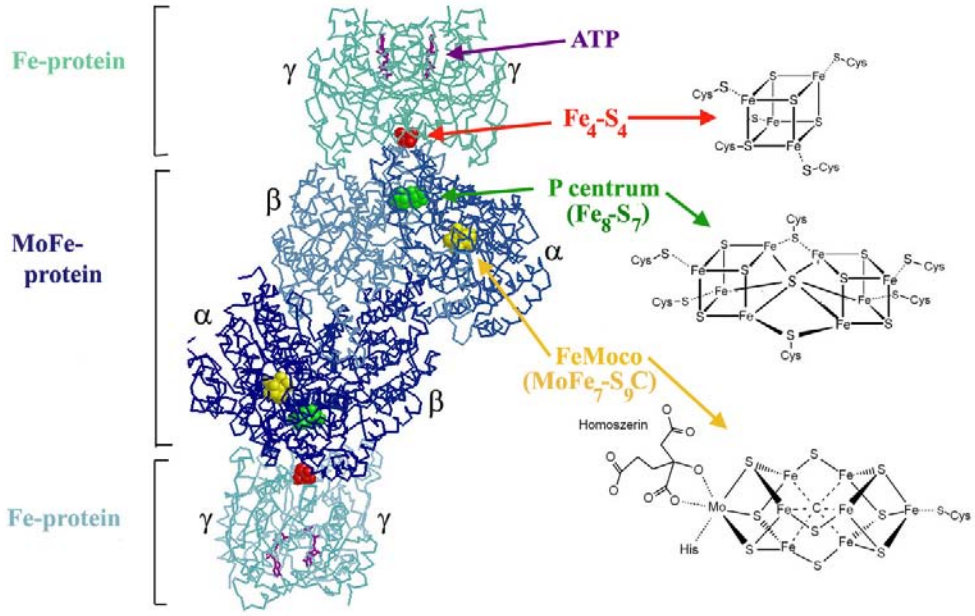
A N_2-redukció folyamatát minden diazotróf szervezetben a **nitrogenáz** enzimkomplex katalizálja, amely O_2 jelenlétében irreverzibilisen inaktiválódik. A nitrogenáz védelmét az biztosítja, hogy speciális morfológiai és biokémiai sajátságokkal rendelkező, oxigén-limitált környezetben működik. Az **alacsony oxigénszint**et egyes baktériumok esetében nyálkaréteg, a fotoszintetizáló kékbaktériumokban pedig a fotoszintézis és a nitrogénfixáció időbeli, illetve térbeli elválasztása biztosítja. Az egysejtű kékbaktériumok csak éjjel fixálnak nitrogént, a fonalasok nitrogénfixációja pedig specializált, vastagfalú, csak ciklikus fotoszintetikus elektrontranszportra képes sejtekben, un. **heterocisztá**kban történik. A **szimbiotikus nitrogénfixáció** magas produktivitása a nitrogénfixációhoz szükséges

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

optimális körülmények, az alacsony oxigénkoncentráció a fixáció helyén és a kiegyensúlyozott szénellátás a fixált N beépítéséhez, biztosításának köszönhető. Bár az **asszociatív szimbiózis**ok, mint az *Azotobacter-Gossipium* fillocönozisok, vagy az *Azospirillum-Zea* rhizocönozisok is növelik a növények hozamát, nehéz eldönteni, hogy ezt a prokarióta nitrogénfixációja eredményezi-e vagy egyéb hatásoknak (hormontermelés, vitaminok, antimikrobiális hatások) tulajdonítható.

6.1.1.1. A nitrogenáz enzim felépítése és működése

A dimer nitrogenáz enzimkomplexet kétféle protein alkotja, a MoFe-protein (molibdoferredoxin, dinitrogenáz) és a Fe-protein (azoferredoxin, dinitrogenáz-reduktáz). A **MoFe-protein** két különböző alegységből felépülő tetramer (**$\alpha_2\beta_2$** – *nifD,K* gének termékei – 240 kDa) (**6.2. ábra**). Kofaktorai az un. **P centrumok** (Fe_8-S_7), amelyeket az α és β alegységek közösen kötnek, valamint az α alegységeken kötődő **FeMo-kofaktorok** (**FeMoco**, $MoFe_7$-S_9C). E módosult Fe-S centrumok redukciója/oxidációja is 1-1 elektron felvételével/leadásával történik. (Vannak olyan nitrogenázok, amelyek alacsonyabb hatékonyságú FeVco-t vagy csak Feco-t tartalmaznak. A szimbionta baktériumokban azonban mindig FeMoco a kofaktor.) A N_2 a FeMoco-hoz kötődik. A tetramer **4 nukleotidkötő hely**et is tartalmaz. A **Fe-protein** két azonos alegység dimerje (**γ_2** – *nifH* gén terméke – 64 kDa). A dimer két proteinje közösen köt egy **Fe_4-S_4centrum**ot. A γ alegységek **2-2 ATP/ADP-kötő hely**et tartalmaznak. Az enzim működése során egy αβ MoFe-protein monomerhez egy Fe-protein kapcsolódik.

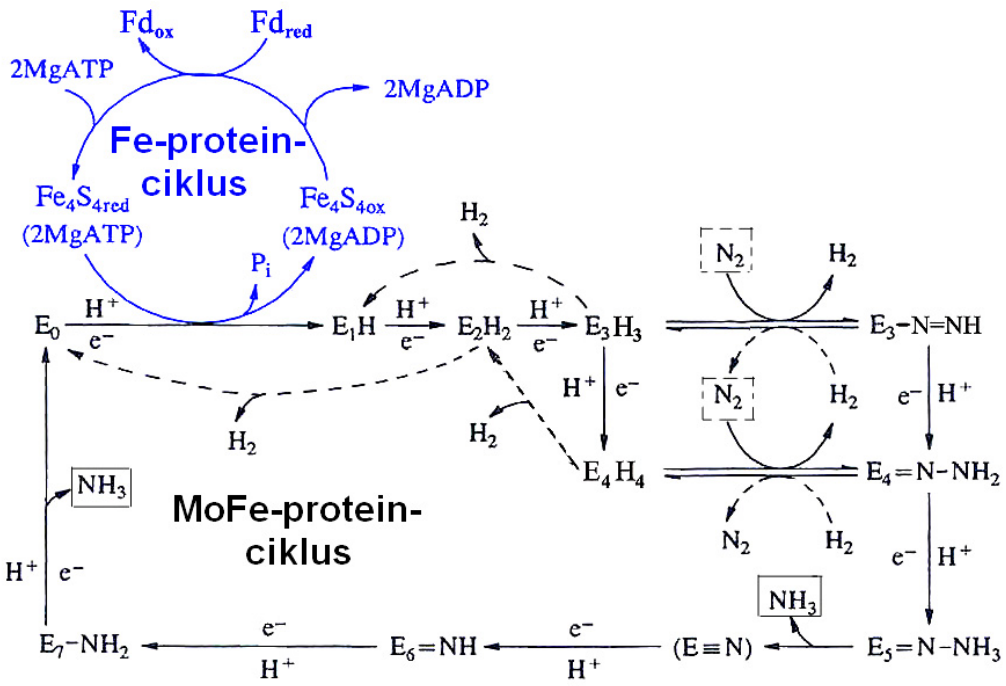


6.2. ábra A nitrogenáz enzim felépítése. A nitrogenáz enzim dimer MoFe-proteinjéhez αβ monomerenként 1-1 Fe-protein kapcsolódik. A Fe-protein 2 ATP-t és cisztein oldalláncokkal egy Fe_4-S_4 centrumot köt. A MoFe-protein dimeren két, az αβ alegységek Cys-jei által közösen kötött P centrum, és két, az α alegységekhez kapcsolódó FeMoco kötődik. A P centrum Fe_8-S_7, a FeMoco $MoFe_7$-S_9C összetételű fémcentrum. FeMoco – FeMo-kofaktor.

A N_2 redukcióját a MoFe-protein katalizálja (**6.3. ábra**). A MoFe-protein FeMoco centruma a sorozatos redukciós lépések során egyre redukáltabb állapotba (**E_1-E_8**) kerül (**MoFe-protein-ciklus** – Thorneley-Lowe kinetikai modell). Minden elektron felvételét egy proton felvétele is kíséri. A **N_2 kötődése** az enzim redukáltabb állapotaiban (**E_3, E_4) H_2 felszabadulása közben** történik. Ez az oka annak, hogy a H_2 kompetitíve gátolja a N_2 redukcióját, és hogy egy N_2 molekula redukciójakor mindig képződik egy H_2 molekula még optimális körülmények közt is. Ha azonban az elektronok betáplálása nem elég gyors, akkor E_2-E_4 állapotokban, N_2 bekötődése nélkül is történhet H_2-képződés, azaz ilyenkor az elektronok nagyobb része használódik fel H_2-termelésre. A **N_2 a FeMoco-on kötött** állapotban redukálódik. A redukció intermedierjei valószínűleg diimid (N_2H_2) és hidrazin (N_2H_4), a végtermék, ami végül leválik az enzimről, az NH_3. (A redukció menetét még nem ismerjük pontosan, beleértve a N_2 és a reakció intermedierek fémcentrumokhoz való koordinációját és azt, hogy az ammónia felszabadulása mikor/hogyan történik.)

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

Szénmonoxid kötődése a katalízisben résztvevő fémcentrumokhoz az enzimműködést gátolja. Az enzimkomplex a N_2-en kívül más szubsztrátokat is redukálhat ($N_2O \rightarrow N_2 + H_2O$; $CN^- \rightarrow NH_3 + CH_4$; $N_3^- \rightarrow N_2 + NH_3$; $C_2H_2 \rightarrow C_2H_4$), amelyek közül az acetilén etilénné történő redukciójának mérését használják az enzimaktivitás *in vitro* detektálására.



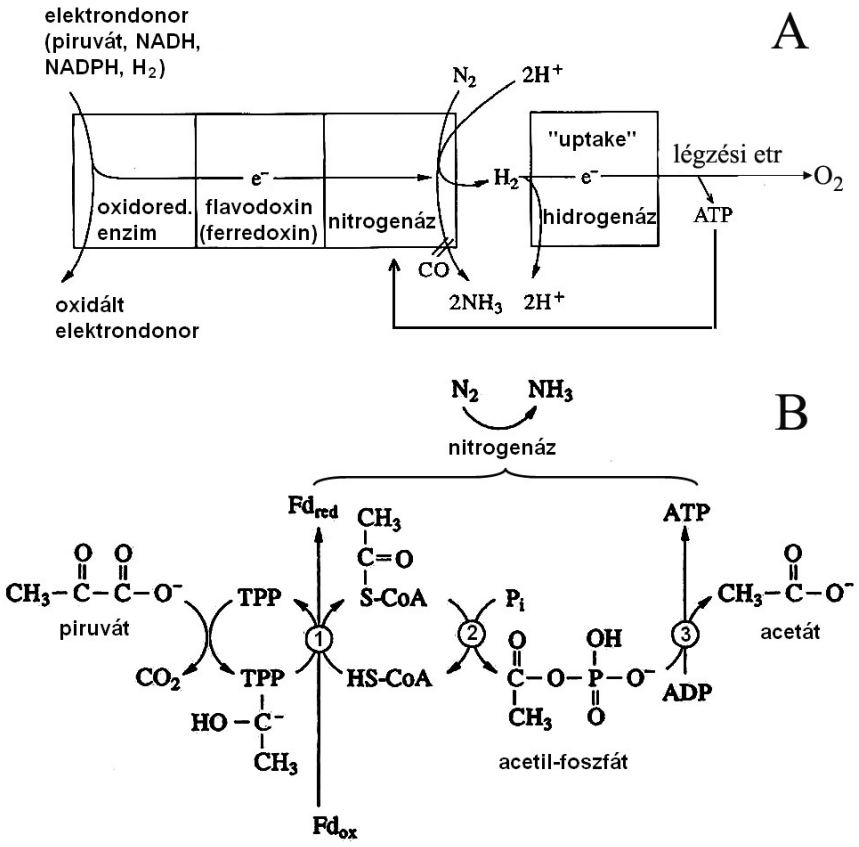
6.3. ábra A nitrogenáz működés kinetikai modellje (Lowe és Thorneley, 1984 után módosítva). A MoFe-protein (E) redukáltsági foka 0-8-ig változik a MoFe-protein ciklusban. Minden redukciós lépéshez egy Fe-protein-ciklus lejátszódása szükséges. A Fe-protein-ciklus során a Fd redukálja a Fe-proteint, ami két ATP-t köt, és ATP hidrolízis közben átad egy elektront a MoFe-proteinnek. Minden elektron felvételét a MoFe-proteinen egy proton felvétele is kíséri. A N_2 a MoFe-protein redukáltabb állapotaiban (E_3-E_4), 3,4 elektron és proton felvétele után kötődik H_2-felszabadulás közben. H_2-felszabadulás N_2 kötés nélkül is történhet a MoFe-protein 2-4-szeresen redukált (E_2-E_4) állapotaiban. A redukció során enzimkötött diimid és hidrazin intermediereken keresztül ammónia képződik, ami leválik az enzimről.

A MoFe-protein redukciója *in vivo* csak a Fe-protein segítségével mehet végbe, amely minden egyes redukciós lépés során komplexet képez a MoFe-protein αβ részével, majd leválik arról (**6.3. ábra**: **Fe-protein-ciklus**). A szabad Fe-protein Fe_4-S_4 centrumát a redukált Fd (Fe_2-S_2 centrumot tartalmazó kis protein), míg egyes/vashiányos szervezetekben a hasonló redoxpotenciálú flavodoxin (FMN kofaktorral működő kis protein) redukálja. A redukált Fe-protein 2 MgATP-t köt. Az ATP kötődés konformáció-változást idéz elő, ami csökkenti a Fe_4-S_4 centrum redoxpotenciálját -280 mV-ról -400 mV-ra és elősegíti a Fe-protein kapcsolódását a MoFe-proteinhez. A Fe-protein Fe_4-S_4 centrumáról a MoFe-protein P centrumára történő elektrontranszport ATP hidrolízissel kapcsolt, amihez mind a Fe-protein, mind a MoFe-protein szükséges. Azután az elektron a P centrumról a FeMoco-ra, majd a redukálódó szubsztrátra kerül. Az ADP-t kötő Fe-protein konformációs változása a proteinkomplex disszociációját váltja ki, így lehetővé válik a Fe-protein újbóli redukciója és az ADP ATP-re való kicserélődése. A MoFe-protein-ciklus minden egyes redukciós lépése tehát egy Fe-protein-ciklussal kapcsolt. Ha elég redukált Fd és ATP áll rendelkezésre, akkor az enzimkomplex többnyire asszociált állapotban van. Ez a N_2 redukció szempontjából előnyös, mert csökkenti az optimálisnál több H_2 képződését, ami csak a szabad MoFe-proteinen történik. Az energia- és reduktánsellátottság tehát fontos poszt-transzlációs szabályozó tényező.

A nitrogénfixáció folyamata a szabadon élő és szimbiotikus prokariótákban is hasonló, de a reduktánsok és az ATP biztosítása a különböző szervezetekben különböző módon történhet. Az ATP fotoszintetikusan (sok nitrogénfixáló baktérium fotoszintetikus) vagy a légzési folyamatok során termelődik. A redukált Fd a piruvát:Fd-oxidoreduktáz (foszforoklasztikus reakció – ATP-t is termel) vagy a NADH/NADPH:Fd-oxidoreduktáz reakciók során enzimatikusan képződik (**6.4. ábra**). A NADH/NADPH forrása elsősorban a citrát- (más néven trikarbonsav-, Szentgyörgyi-Krebs-)/pentózfoszfát-ciklus. Egyes nitrogént fixáló szervezetekben a nitrogenáz működésekor

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

termelődő H_2 molekulák is felhasználódhatnak egy speciális hidrogenáz enzim (**„uptake" hidrogenáz**) közreműködésével, amely a H_2-t bontja protonokra és elektronokra. Az elektronok a Fd redukciójához, illetve Q szinten bekapcsolódva a légzési elektrontranszportláncba ATP termelésre használódhatnak fel.



6.4. ábra A nitrogenáz természetes elektrondonorai és a nitrogenáz- *uptake*-hidrogenáz kapcsolat (A), valamint a foszforoklasztikus reakció (B). (A) A nitrogenáz elektrondonorai a piruvát, a NAD(P)H és a H_2 lehetnek. Az elektronok oxidoreduktáz enzimek közvetítésével a Fd-ra, onnan pedig a nitrogenázra kerülnek, ahol redukálják a N_2-t NH_3-vá. A N_2 redukció melléktermékeként keletkezett H_2-t az un. „uptake" hidrogenáz bontja protonokra és elektronokra. Az elektronok a Fd-ra kerülhetnek, vagy belépnek a légzési elektrontranszportláncba és energiájuk ATP-termelésben hasznosul. (B) Az un. foszforoklasztikus reakcióban a piruvátból redukált Fd és ATP is képződik. A tiaminpirofoszfát kofaktorral működő piruvát:Fd-oxidoreduktáz a Fd-t redukálja és a piruvát oxidatív dekarboxilációjakor képződő acetil-csoportot CoA-ra viszi át. A CoA-n kötött aktivált acetil-csoportot a foszotranszacetiláz anorganikus foszfát csoportra kapcsolja acetil-fosztát keletkezése közben. A nagyenergiájú acetil-foszfát acetát-kinázzal való bontásakor ATP valamint acetát keletkezik. 1. piruvát:Fd-oxidoreduktáz, 2. foszfo-transzacetiláz, 3. acetát-kináz. etr – elektrontranszportlánc, HS-CoA – koenzim-A, TPP – tiaminpirofoszfát.

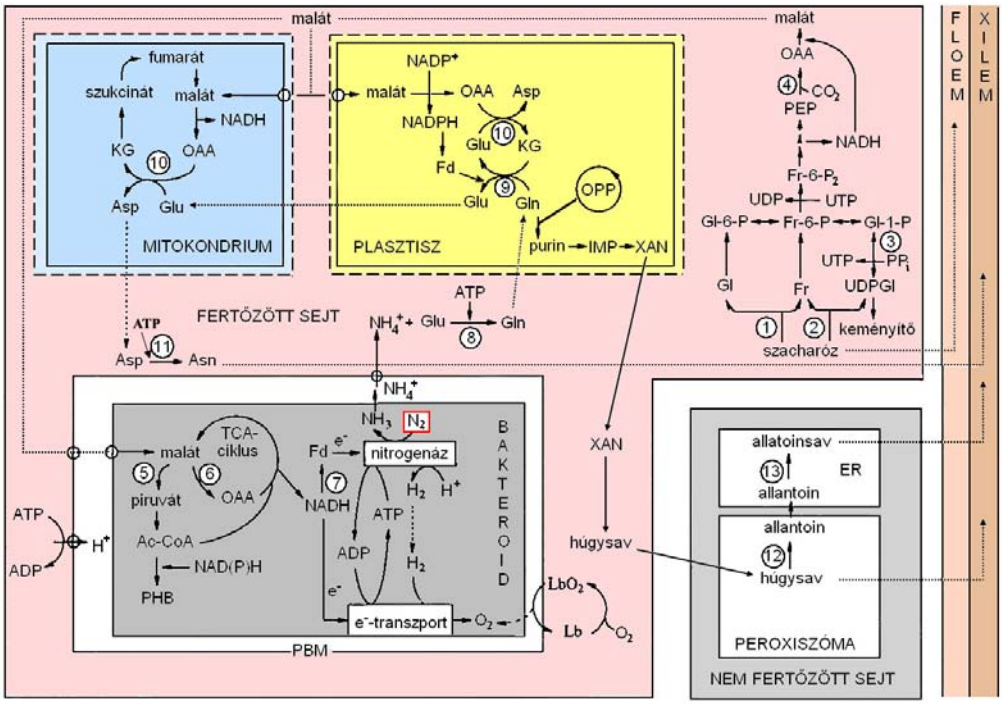
6.1.1.2. Rhizobium szimbiózisok

A mezőgazdaságilag legfontosabb, és ezért leginkább tanulmányozott rhizobium-pillangós szimbiózisokban a nitrogénfixáció helye a **gyökérgümő** (**nodulusz**) (ld. 12.1. ábra). A gyökérgümők a kérgi régióban a szimbionták által indukált osztódások következményeként kialakuló gömbölyű vagy elliptikus képződmények. Lehetnek determinált és indeterminált növekedésűek. Szöveti felépítésük megegyezik a gyökérével: A determinált növekedésű noduluszok (szója, bab) epidermiszt, kérget, endodermiszt és szállító szöveteket tartalmaznak, az indeterminántakban (borsó, lucerna, lóhere) a fentieken kívül merisztéma is található, növekedésre képesek. Jellegzetességük, hogy a kérgi sejtek nagy része szimbiontákat tartalmazó infektált sejt.

A fertőzött sejtekben egy vagy több prokarióta a peribakteriodális membránnal körülvett „sejtszervecskében", a **szimbioszómá**ban helyezkedik el. A szimbioszómák szinte kitöltik a sejt egész citoplazmáját. A prokarióták a

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

szabadonélő rhizobiumokhoz képest átalakultak: a kisméretű pálcika alakú, nitrogént nem fixáló baktériumok nagyobb, pleomorf (többféle szabálytalan alakú) **bakteroid**okká fejlődtek, amelyek nitrogénfixációra képesek. A szimbioszóma matrixa a **peribakteriodális tér**. A **peribakteroidális membrán** módosult plazmamembrán, amely a nitrogénfixációhoz szükséges szállítómolekulákat (pl. H^+-ATP-áz, szerves sav transzporterek speciális akvaporinok, ammónium csatorna) tartalmaz. A szója-rhizobium szimbiózis működése a legismertebb, a továbbiakban ezt tárgyaljuk (**6.5. ábra**).



6.5. ábra A nitrogénfixáció kapcsolata a szén- és nitrogén-anyagcserével a szója-rhizobium szimbiózisban. A bakteroidokban (fertőzött sejt, szürke) történik a nitrogénfixáció, amihez a szénváz, redukált Fd (citrát-ciklusban termelt NADH és NADH:Fd-oxidoreduktáz) és energia (citrát-ciklusban termelt NADH és oxidatív foszforiláció) a malátból származik. A N_2 átdiffundál a membránokon. Az oxigénszállítást, és ugyanakkor a nitrogenáz működéséhez szükséges alacsony O_2 koncentráció fenntartását a leghemoglobin biztosítja. A malátot, amely dikarboxilát transzporterek közvetítésével mozog a kompartmentek között, a gyökérgümősejtek állítják elő a floémen keresztül odajutó szénhidrátokból a citoplazmában folyó glikolízis termékeiből PEP-karboxiláz és malát dehidrogenáz közreműködésével. A bakteroidok által termelt NH_3 a peribakteroidális térben már ammónium ionként jelenik meg, és speciális ammónium transzporter szállítja a fertőzött sejt citoplazmájába, ahol a GS glutaminba építi be. A GOGAT a plasztiszban a glutaminból glutamátot hoz létre. Ebből mind a plasztiszban, mind a mitokondriumban transzaminációval aszpartát képződhet. Az aszparagin a citoplazmában képződik glutaminból és aszpartátból ATP igényes reakcióban, amit az aszparagin-szintetáz katalizál. A glutamin és az aszparagin a xilémben elszállítódhat a noduluszból. A szintén elszállítható ureidek szintézise a plasztiszban kezdődik, a purin bioszintézis úton inozitol-monofoszfát, majd xantin képződik. Ez a fertőzött sejt citoplazmájába jutva húgysavvá alakul, ami átjut a nem fertőzött sejtek peroxiszómáiba, ahol allantoin keletkezik. Az allantoinsav a citoplazmába kijutó allantoinból jön létre. Invertáz (1), szaharóz-szintáz (2), UDPGl-pirofoszforiláz (3), PEP-karboxiláz (4), almasav-enzim (5), malát-dehidrogenáz (6), NADH:Fd-oxidoreduktáz (7), glutamin-szintetáz (8), glutamát-szintáz (9), aszpartát-aminotranszferáz (10), aszparagin-szintetáz (11), urikáz (12), allantoináz (13). Fd – ferredoxin, IMP – inozin-monofoszfát, KG – 2-oxoglutarát, Lb – leghemoglobin, OAA – oxálacetát, OPP – oxidatív pentózfoszfát-ciklus, PHB – poli-β-hidroxibutirát, XAN – xantin.

Az infektált sejtek szimbioszómáiban elhelyezkedő **bakteroidokban** történik a **N_2 redukció**ja ammóniává. A N_2, amely nagy koncentrációban található a levegőben és a vízben is jól oldódik, könnyen bejut a nitrogénfixáció helyére. A bakteroidok fő légzési szubsztrátjai szerves savak. Az izolált szimbioszómák és bakteroidok is gyorsan felveszik a gazdasejtekben és a peribakteroidális térben nagy koncentrációban jelenlévő **malát**ot dikarboxilát-szállítók közvetítésével. A bakteroidokban kimutatható a citrát-ciklus és az oxidatív foszforiláció, a glikolízis enzimeinek aktivitása viszont nagyon alacsony. A malát az almasav-enzim (a malát oxidatív dekarboxilációjával

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

piruvát keletkezik) és a piruvát-dehidrogenáz (a piruvátból acetil-CoA-t termel), valamint az almasav-dehidrogenáz (a malátból OAA-t hoz létre) termékei révén kapcsolódik be a citrát-ciklusba. A bakteroidok citrát-ciklusa azonban kissé módosult, a 2-oxoglutarát-dehidrogenáz lassú működése miatti gátlást az un. γ-amino-vajsav (GABA) sönt hidalja át (ez is 2-oxoglutarátból szukcinátot hoz létre több lépésben). A ciklusban képződő NADH a nitrogenáz működéséhez szükséges redukált ferredoxin (Fd) és ATP forrása. A redukált Fd-t a NADH:Fd-oxidoreduktáz, az ATP-t pedig a bakteroidok oxidatív foszforilációja hozza létre. (A H_2 újraoxidálását katalizáló un. „**uptake" hidrogenáz**t tartalmazó bakteroidok a nitrogenáz működése során képződött H_2-t is képesek elektrondonorként vagy a légzési elektrontranszporthoz kapcsoltan ATP szintézisre felhasználni.) A malátból képződő acetil-CoA azonban nem mindig tud teljes mértékben eloxidálódni a légzési elektrontranszport lánc limitált oxigénellátása miatt. Ilyenkor poli-*β*-hidroxibutirát (tartalék szénhidrát a bakteroidokban) szintézisére is felhasználódhat.

A nitrogénfixációhoz szükséges **reduktáns**ok **és energia forrás**ai végső soron a gazdaszervezet fotoszintézistermékei (12-17 g szénhidrát g^{-1} fixált nitrogén). Amikor a nitrogénfixáció maximális, a nettó fotoszintézistermék mintegy 50%-a szállítódik szaharóz formájában a hajtásból a floémen keresztül a gyökérgümőbe, ahol energiát és szénvázat szolgáltat a noduluszszövetek képződéséhez és fenntartásához (10%), a nitrogénkötéshez és az ammónia asszimilációjához (78%), valamint a szállítható N-vegyületek szintéziséhez (12%). A levelekből a floémben a gazdasejtekbe szállított szacharózt az invertázok és a szacharóz szintetázok (az UDPG-pirofoszforilázzal együtt) 6 szénatomos cukrokra bontják. A glikolízis során képződött triózokból a noduluszsejtek magas **PEP-karboxiláz** aktivitása következtében OAA keletkezik, amiből a **malát**ot a citoplazmatikus **almasav-dehidrogenáz** hozza létre a glikotikusan képződött NADH felhasználásával.

Az **oxigénérzékeny nitrogenáz védelme** miatt a nitrogénfixáció helyén az O_2 koncentrációja nagyon alacsony. Ezt egyrészt egy, az epidermisz alatt található, szorosan elhelyezkedő sejtekből álló, kis oxigén-permeabilitású **sejtréteg** biztosítja, amely glikoproteineket tartalmaz. Az O_2 koncentráció növekedése perceken belül kompenzációs mechanizmusok (turgorváltozás – vizes közegben lassúbb az O_2 diffúzió) beindulását eredményezi ebben a sejtrétegben. Ugyanakkor, mind a bakteroidok, mind a gazdasejtek légzéséhez O_2-re van szükség. A pufferolt O_2-szállítást a **leghemoglobin** biztosítja. A leghemoglobin ugyan lassabban diffundál, mint az O_2, de nagy (mM-os) koncentrációban van jelen, és az oldhatósága is sokkal jobb. Nagy oxigénaffinitása (tízszer nagyobb, mint a hemoglobiné) miatt a szabad O_2 koncentráció alacsony. Az alacsony O_2 koncentrációnál is hatékony O_2-felhasználást elősegítik a bakteroidok **nagy affinitású végoxidáz**ai, valamint az is, hogy a gazdasejt mitokondriumai perifériásan helyezkednek el.

A **redukált nitrogén** aminosavakba való **beépítésé**re a bakteroidok nem képesek, ez **csak a gazdasejtben** történhet meg. A redukció során keletkező NH_3 kijut a szimbioszóma matrixába, ahol oldódva NH_4^+ ionként van jelen. A protonokat a peribakteroidális membránban lokalizált **H^+-ATP-áz**ok szolgáltatják. (Ha a bakteroidok nem termelnek ammóniát, akkor a H^+-ATP-ázok működése következtében a szimbioszóma lizoszómaként működik, azaz az alacsony pH aktiválja a lítikus enzimeket, és elpusztítja a prokariótákat). Az NH_4^+ transzportját a gazdasejtbe a peribakteroidális membrán **speciális ammónium transzporter**ei biztosítják. Az NH_4^+ szerves vegyületekbe való beépítését a fertőzött sejtek citoplazmájában kimutatható nodulusz-specifikus **glutamin-szintetáz** (**GS**) és a proplasztiszokban lokalizált **glutamát-szintáz** (**GOGAT** – glutamin–2-oxoglutarát aminotranszferáz) enzimek katalizálják. A GS az ammóniát glutamátba építi be glutamin keletkezése közben, a reakció ATP igényét az oxidatív foszforiláció biztosítja. A GOGAT a glutamin ε-aminocsoportját 2-oxoglutarátra (**OG**) viszi át. A működéséhez szükséges redukált Fd képződését a NADH:Fd-oxidoreduktáz szolgáltatja.

Az ammónia elsődleges asszimilációs termékéből, a glutaminból a különböző pillangós szimbionta rendszerekben különböző **transzportálható N-vegyületek** képződnek, amelyek a gyökérgümőből a xilémen keresztül a felhasználás helyére szállítódnak. A redukált N-vegyületek szállítható és tárolt formái a növényekben az **amidok** (glutamin és aszparagin) és az ureidek (allantoin, allantoinsav, citrullin). Az allantoin és allantoinsav kevésbé oldhatók, mint az amidok, de ezt ellensúlyozza, hogy nagyobb a N/C arányuk. Az aszparagint citoplazmatikus aszparagin-szintetáz (2) hozza létre glutaminból és aszpartátból glutamát képződése közben. Az aszpartát glutamátból és OAA-ból transzaminációval képződik a plasztiszban vagy a mitokondriumban (1):

$$\text{Glu} + \text{OAA} \rightarrow \textbf{Asp} + \text{OG} \qquad (1)$$

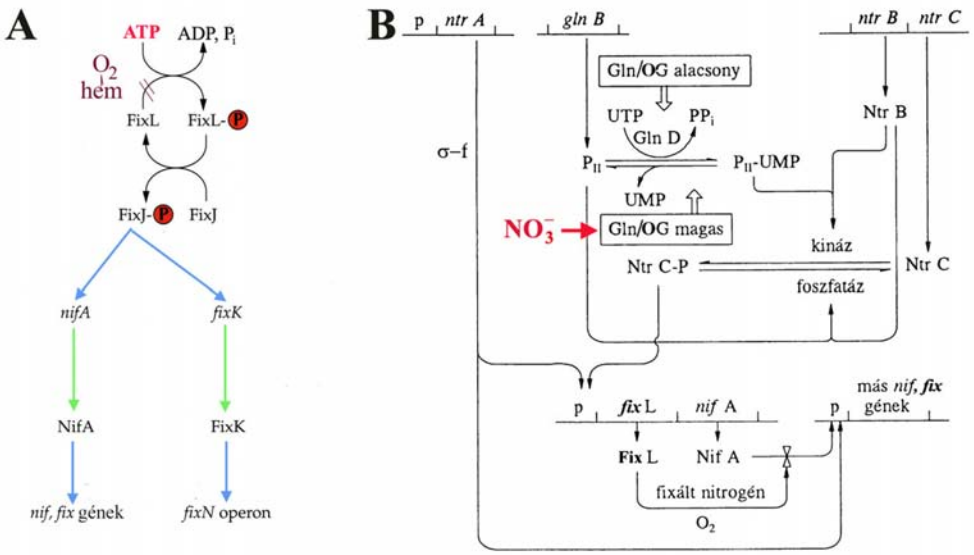
$$\text{Asp} + \text{Gln} + \text{ATP} \rightarrow \textbf{Asn} + \text{Glu} + \text{ADP} + P_i \qquad (2)$$

Az **ureidek** (allantoin, allantoinsav) a fertőzött sejtek plasztiszaiban szintetizálódott purinok oxidatív degradációjával képződnek a sejtek plasztiszaiban (inozitol-monofoszfát →xantozin-monofoszfát→xantin), az infektált sejtek citoplazmájában (xantin→húgysav), majd a nem infektált sejtek peroxiszómáiban (húgysav→allantoin) és

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

endoplazmatikus retikulumában (allantoin→allantoinsav). Az ureideket transzportáló pillangósokban a hexózok a plasztiszban működő oxidatív pentózfoszfát-ciklus útján történő lebontása is fontos, mert az NADPH-t és ribozil-egységeket biztosít a purin-bioszintézishez. A citrullint az ornitin-transzkarbamoiláz hozza létre glutamátból szintetizálódó ornitinből és a glutaminból képződő karbamoil-P-ból. A N-vegyületek noduluszból történő exportja során az odaszállított fotoszintézistermék 25-30%-a visszajut a hajtásba. Az elszállított szén 20-25%-a pedig a PEP-karboxiláz által megkötött CO_2-ból származik. Az infektált és nem infektált sejteket plazmodezmák kötik össze, amelyek elősegítik a szénforrás és a nitrogénvegyületek transzportját.

Mint azt a fentiekben láthattuk, a szimbiotikus nitrogénfixáció jelentős energiát igénylő, oxigén-érzékeny folyamat. **Szabályozás**a több szinten történik. Az **enzimaktivitás**t, a N_2/H^+ redukció arányát a reduktánsok és az energia, azaz a noduluszba szállított szénhidrátok mennyisége szabja meg. A nitrogénfixáció folyamatában résztvevő komponensek **gén**jeinek (***fix, nif* gének**: enzimek, transzporterek, „*uptake*" hidrogenáz génjei, kofaktorok szintéziséhez szükséges gének) **expresszió**ját mind az O_2-szint, mind a növény N-ellátottsága befolyásolja (**6.6. ábra**).



6.6. ábra A szimbiotikus nitrogénfixációval kapcsolatos gének expressziójának szabályozása. A génexpresszió mind a szöveti O_2 koncentrációtól (A), mind a szerves nitrogénnel való ellátottságtól (B) függ. A kék nyilak a génexpressziót, a zöld nyilak a transzlációt jelölik. A magyarázatot ld. a szövegben.

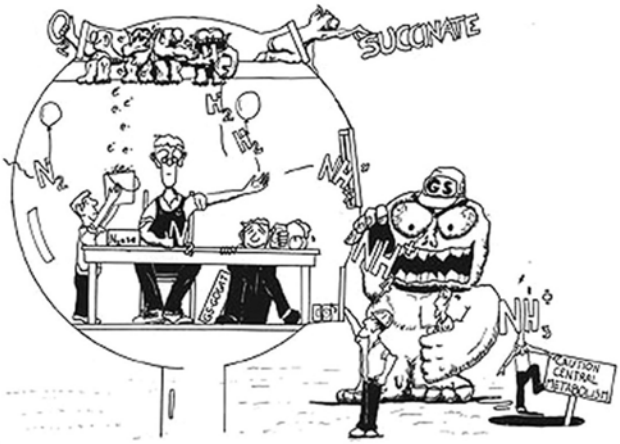
A génexpresszió csak alacsony **O_2 koncentráció**nál következik be. A FixL protein, amely egy kétkomponensű regulációs rendszer része, szabályozza azt a regulációs kaszkádot, ami a nitrogénfixációhoz szükséges gének transzkripcióját aktiválja. A FixL egy O_2-érzékelő, autofoszforilálódó hem-protein. Ez csak akkor képes foszforilálódni és protein-kinázként működve foszforilálni a FixJ-t, ha alacsony O_2 koncentrációnál a hem nem köt O_2-t. A foszforilált FixJ egy transzkripciós faktor, ami aktiválja a *nif* és *fix* regulátor és struktúrgének transzkripcióját. E gének transzkripciója azonban a növény **N-ellátottság**ától is függ. Alacsony redukált nitrogén szint esetén a NtrB protein kofaktora, a PII (GlnB géntermék) enzimatikusan (GlnD géntermék) aktiválódik (PII-UMP). Ekkor a NtrB (protein kináz) foszforilálja a NtrC transzkripciós faktort, ami azután aktiválja *nif* és *fix* gének transzkripcióját. Magas fixált nitrogénmennyiség esetén (magas Gln/OG arány) a PII és emiatt a kináz is inaktív. A génexpressziót a transzkripciót aktiváló σ-faktor (*ntrA* gén terméke) szintézise is elősegíti. Ha megfelelő mennyiségű **nitrát** van jelen a talajban, akkor a nitrogénfixációs aktivitás és a nitrogénfixációval kapcsolatos gének expressziója is gátlódik, ami a nitrát redukció következtében a gyökérbe szállított szénhidrátmennyiség csökkenésével és a redukált N-vegyületek arányának növekedésével függ össze. A nitrát a nodulációt is gátolja valószínűleg a szerves nitrogénnel jól ellátott hajtásból a gyökérbe történő auxintranszport révén. Az auxin/citokinin arány növekedése gátolja a noduluszképződéshez szükséges kérgi sejtosztódást (ld. a 12. fejezetben).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

6.1.1.3. Szimbiózis aktinobaktériumokkal

Az aktinorhizás noduluszok, amelyek leginkább az indeterminált rhizobium noduluszokhoz hasonlítanak, sokszorosan elágazó, módosult oldalgyökerek. A sokszoros gyökérelágazást (rhizothamnia) a fertőzött sejtek fokozott auxintermelése váltja ki. A noduluszok csúcsi merisztémával rendelkeznek, a központi edénynyalábokat endodermisz, azt pedig kéregsejtek veszik körül, amelyek egy része a *Frankia* génuszba tartozó, Gram-pozitív aktinobaktériumokkal fertőzött, hifákat tartalmaz. A fertőzött sejtekben a hifák végei a sejtfelszínhez közel helyezkednek el, a csúcsi sejtek vezikulumokká vagy bunkószerű képződményekké szélesednek. A vezikulumok, a heterocisztákéhoz hasonlóan, többrétegű, vastag sejtfallal rendelkeznek. A hifákat a gazdanövény sejtfalával egybefüggő, feltehetően gazdanövény eredetű, pektinázokkal oldható tok és plazmalemma választja el a gazdasejttől. A struktúra eltér az infekciós csatornáétól, mivel nincs mátrix a szimbionták és az azokat körülvevő tok közt. A szimbionták tehát lényegében intercellulárisak, bár a fertőzött sejt térfogatának nagy részét kitöltik.

Az aktinorhizás noduluszok meglehetős variabilitást mutatnak struktúrájukban és fiziológiájukban. Az alacsony O_2 koncentráció fenntartását ezekben a szimbiózisokban hemoglobin biztosítja. Egyesek (*Frankia-Alnus glutinosa*) hasonlóan működnek, mint a rhizobium-pillangós szimbiózisok (**6.7. ábra**). Szerves savakból (szukcinát) és H_2-ből nyerik a reduktánsokat és az energiát a nitrogénfixációhoz, a redukált nitrogén beépítése és a szállított N-vegyületek szintézise a gazdasejtben történik.



6.7. ábra Az *Alnus glutinosa*-Frankia szimbiózisok fertőzött sejtjében a szimbiotikus nitrogénfixációhoz szükséges reduktánsok és energia előállításához a gazdanövény szukcinát formájában biztosítja a szénhidrátokat. Reduktánsként H_2 is felhasználható. Az ammónium beépítése a gazdasejtben történik, a szimbioszómákban a GS és a GOGAT nem aktív (David Benson, Univ. Connecticut engedélyével reprodukálva).

Más szimbiózisban (*Frankia-Datisca glomerata*) azonban a szimbioszómákban kimutatták az ammónia primer asszimilációját és arginin szintézisét, az utóbbi a gazdasejtekbe transzportálódik. A nem infektált sejtekben azonban az arginin lebomlik, a keletkező NH_4^+ újrafixálódik, és a pillangósoknál leírt szállítható N-vegyületek képződnek. Tehát ebben a szimbiózisban a *Frankia*-k metabolikus függetlensége jelentősebb.

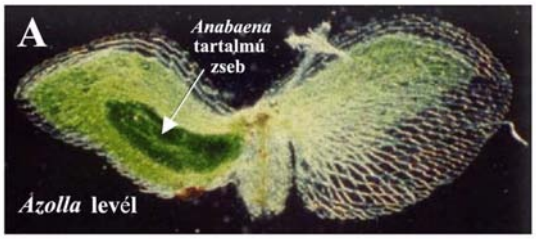
6.1.1.4. Szimbiózis kékbaktériumokkal

A szimbionták általában fonalas kékbaktériumok (*Nostoc* és *Anabaena*), amelyek különböző rendszertani kategóriákba tartozó növényekkel élnek szimbiózisban. Többnyire sejten kívül, nyálkatartalmú üregekben helyezkednek el, amibe transzportsejtszerű szőrképződmények nyúlnak be. A *Gunnera-Nostoc* szimbiózisban a szimbionták a levélnyél alapi részén elhelyezkedő nyálkamirigyekben, sejten belül, míg a *Cycas-Nostoc* szimbiózisban apogeotropos gyökérnoduluszokban, epidermisz eredetű sejtrétegben, intercellulárisan találhatók.

A legismertebb az *Azolla* (vízipáfrány)-*Anabaena* szimbiózis, amelynek nagy jelentősége van a rizsföldek N-ellátásában. Bár az *Azolla* szimbiontái intercellulárisak, a növény egész élete folyamán jelen vannak. A hajtáscsúcs merisztémájában differenciálatlan kis sejtekből álló, csúszó mozgásra képes fonalak (hormogonium fonalak) a

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

levél kifejlődésekor a szőrképletekre csavarodva nőnek bele a levél színének alapi részén, az epidermisz visszahajlásával képződő üregekbe, majd differenciálódnak (**6.8. ábra**).



6.8. ábra *Azolla-Anabaena* szimbiózis. Az *Azolla* páfránylevél színének alapi részén *Anabaena* kékbaktériumokkal telt zsebbel (Lumpkin és Plunkett, 1980; Springer Science+Business Media B.V. engedélyével reprodukálva).

Spóraképzéskor spóraszerű formában jutnak be a sporofitonba. A differenciálódott fonalakban sokkal gyakoribb a heterociszta (20-30%), mint a szabadonélő fonalas kékbaktériumokban. Az üregben lévő szőrképletek között nyálkaanyag van, középső részét gáztér tölti ki. A kékbaktériumok nitrogént fixálnak és az üregbe nitrogéndús metabolitokat bocsátanak ki. A páfrány ezeket felveszi, ugyanakkor szénhidrátokat bocsát ki, amelyeket a szimbiózisban nem fotoszintetizáló kékbaktériumok használnak fel.

6.1.2. Nitrátasszimiláció

Bár a szerves nitrogén végső forrása a levegő nitrogénje, a növények legfontosabb N-forrása a nitrát, de fajtól függően különböző mértékben NH_4^+-ot is képesek hasznosítani. Az NH_4^+ a negatívan töltött talajszemcséken kötődik, tehát viszonylag lassú a diffúziója. Ha azonban gyökérközelbe kerül, akkor könnyebben felvehető, mint a nitrát. A nitrát nem kötődik a talajszemcsékhez, gyorsan diffundál, a felső talajrétegből könnyen kimosódva a talajvizeket szennyezi. Koncentrációja a talajban nagyságrendileg különbözhet mind szezonálisan, mind helyről-helyre, még kis távolságokban is. A nitrátasszimiláció növényfajtól, fejlődési állapottól és a környezeti hatásoktól függően különböző mértékben történik a levélben és a gyökérben. Függ a transpiráció sebességétől és a gyökér szénhidrát-ellátottságától. A lágyszárúakban elsősorban a levélben történik, a C_4-es növényekben szinte kizárólag a mezofillumban megy végbe. A fiatal, illetve fásszárú növényekben a nitrát nagyobb mértékben asszimilálódhat a gyökérben. A nitrátasszimiláció a gyökér hossztengelye mentén fejlődési állapottól függő gradienst mutat, a legnagyobb aktivitás közvetlenül a gyökércsúcs közelében található. Ha a gyökér nitrátasszimilációs kapacitása kimerült, akkor a nitrát a gyökérsejtek vakuólumaiba kerül vagy a xylémben a levelekbe szállítódik, ahol asszimilálódik, illetve nagy koncentrációban (20 mM) halmozódhat fel a vakuólumokban (ozmotikumként szolgál). Szervszinten a tárolás legnagyobbrészt a gyökérben, a szárban és a levélerekben történik. (A tápláléknövények magas nitrát koncentrációja methemoglobémiát okozhat: a májban a nitrát nitritté redukálódik, ami az oxihemoglobint ferri-vasat tartalmazó, kék színű methemoglobinná oxidálja. Ez nem képes oxigént leadni, így a szövetek oxigénfelvétele akadályozott. Különösen csecsemőknél veszélyes ez az un. kék bébi szindróma, mert náluk nincs meg a methemoglobin reduktáz enzim.)

6.1.2.1. Nitrát- és ammóniumfelvétel

Az ammónia a membránokon átjutva a növény víztereiben NH_4^+-t képez. A talajoldatokban lévő NH_4^+ speciális transzporterek közvetítésével uniporttal, illetve a K-csatornákon keresztül vevődik fel a gyökérsejtekbe. A K-felvétel gátlása (ld. K-hiány) magyarázza az ammónium ionok toxikus hatását magas koncentrációban.

A nitrát felvehető mind a gyökérben (epidermisz és kéregsejtek), mind a levélen keresztül (epifitonok, levéltrágya alkalmazása). Felvételét tipikus transzporter struktúrával rendelkező, (12 hélixes) konstitutív és indukálható kis- (Km>0.5 mM) és nagy affinitású (Km: 10-100 µM) transzporterek közvetítik. Ez lehetővé teszi a növények zavartalan növekedését széles nitrát koncentráció-tartományban hiánytünet vagy toxicitás nélkül. A nitrátfelvétel aktív $2H^+/NO_3^-$ kotranszport, ezáltal átmeneti membrán depolarizációt okoz (elektrogén). A transzporthoz a protonokat, illetve a membrán depolarizáció megszüntetését a plazmalemma H^+-ATPáz biztosítja a légzés során termelt ATP felhasználásával. A vakuolumokba uniporttal jut be. A vakuolumokban tárolt nitrát is felhasználódhat hiány esetén, de az asszimiláció elsősorban a nitrát fluxustól (a felvett és közvetlenül a nitrátredukció helyére szállított nitrát mennyisége) függ.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

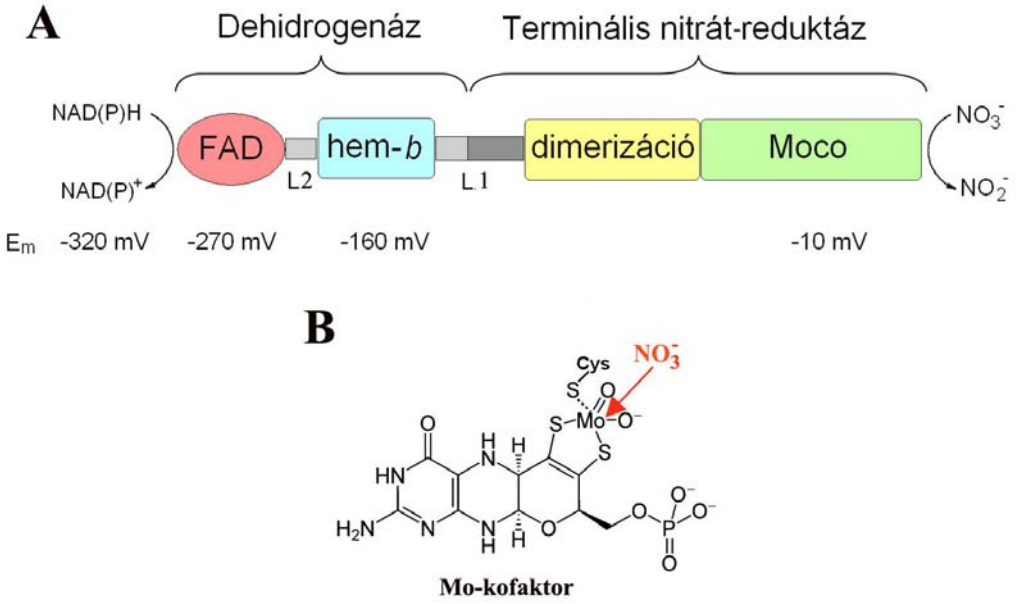
6.1.2.2. Nitrátredukció

A nitrát redukciója két lépésben történik, amelyeket a nitrát-reduktáz (1) és a nitrit-reduktáz (2) enzimek katalizálnak:

NO_3^- (+5) + NAD(P)H + H^+ → NO_2^- (+3) + $NAD(P)^+$ + H_2O (1)

NO_2^- (+3) + 6Fd^- + 8H^+ → NH_4^+(-3) + 6Fd + 2H_2O (2)

A **nitrát-reduktáz**ok dimer (magasabbrendű növényekben) vagy tetramer (algákban) enzimek. A magasabbrendű növények nitrát-reduktázai egy dimerizációs és három aktív domént tartalmaznak, amelyek rendre a flavin-oxidoreduktázokhoz, a citokróm *b*-proteinekhez és a Mo-tartalmú enzimekhez hasonló struktúrával rendelkeznek (**6.9. ábra**).

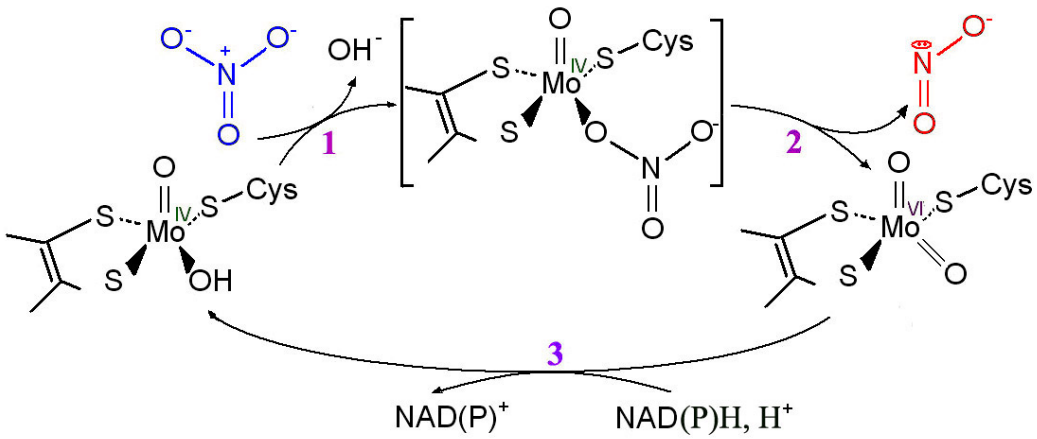


6.9. ábra A nitrát-reduktáz felépítése és működése. (A) A nitrát-reduktáz enzim monomerenként sorrendben egy FAD-kötő, egy citokróm *b*-kötő, egy dimerizációs és egy Mo-kofaktor-kötő domént tartalmaz. A FAD és hem, valamint a hem és dimerizációs domént *loop*-2 (L2), illetve L1 (különösen proteáz érzékeny) régiók kötik össze. A nitrát redukcióhoz felhasznált reduktáns a NAD(P)H, amiről az elektron a FAD-on keresztül a citokróm *b*-re, majd a Moco közvetítésével a nitrátra jut, ami nitritté redukálódik. Proteázos emésztéskor (L1-nél hasad) az enzim két része dehidrogenáz (NADH-ról az elektron a FAD és a citokróm *b* közvetítésével mesterséges elektron akceptorra kerül) és terminális nitrát-reduktáz aktivitást (a Moco mesterséges elektron donorokkal redukálja a nitrátot) mutat. Moco – Mo-kofaktor, hem-*b* – citokróm *b*. (B) A **Mo-kofaktor** (Moco) egy molibdopterin. A nitrát a hidroxo-csoportot helyettesítve kötődik a Moco-n. (a piros nyíl a nitrát bekötődési helyét mutatja).

Az aktív doménekben kötődnek az enzim kofaktorai a NAD(P)H (E_m ~320 mV) és a FAD (E_m ~270 mV), a citokróm *b* (E_m ~160 mV) és a **Mo kofaktor**, egy molibdopterin (**Moco**, E_m ~10 mV), amelyek elektrontranszportláncot alkotnak az enzimen a NAD(P)H-tól a nitrátig. A doméneket *loop*-régiók (L1,2) kapcsolják össze, amelyek közül a Moco/dimerizációs és citokróm *b* domént összekötő L1 könnyen hozzáférhető a proteázok számára. Itt az enzim könnyen hasítható két különböző aktivitással rendelkező részre: az egyik a NAD(P)H segítségével pl. citokróm *c*-t redukáló dehidrogenáz, a másik pedig a terminális nitrát reduktáz, ami a nitrátot pl. $FMNH_2$ elektron donor segítségével redukálja *in vitro*.

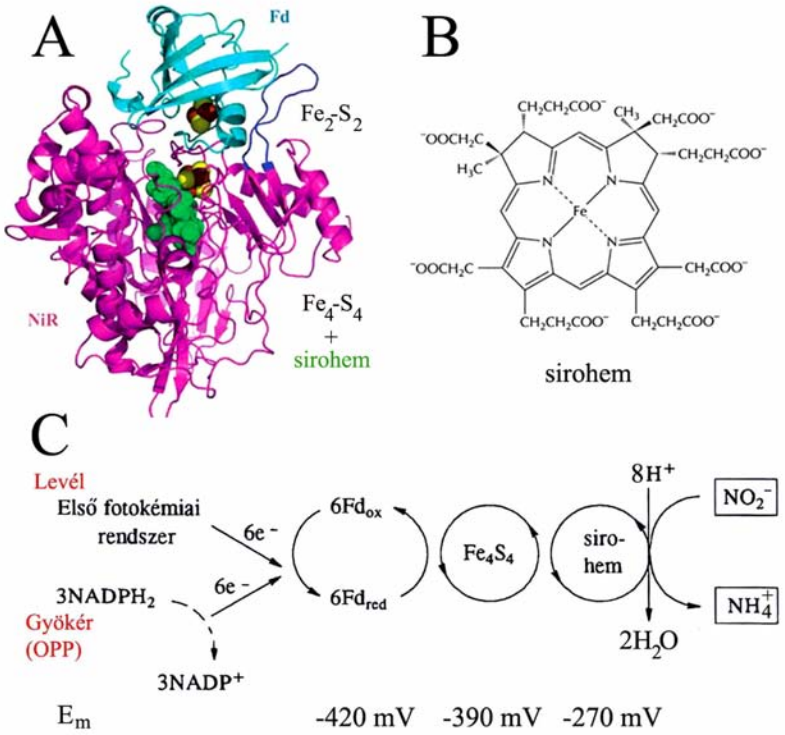
A redukció során a nitrát a Moco hidroxo-ligandumához kötődik a Moco redukált (Mo^{IV}) állapotában (**6.10. ábra**). A Moco-ról a nitrátra történő elektrontranszportot követően (Mo^{VI}) a nitráton az O és N közti kötés hasad, és a nitrit leválik az enzimről. Ezután a Moco NAD(P)H felhasználásával az enzimen kötött kofaktorok alkotta elektrontranszportlánc segítségével redukálódik.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



6.10. ábra A nitrát redukciója a Mo-kofaktoron (Fischer és mtsai, 2005). A nitrát a Mo-kofaktor hidroxo-ligandumához kötődik a Mo-kofaktor redukált (Mo^{IV}) állapotában (1). A Moco-ról a nitrátra történő elektrontranszportot követően (Mo^{VI}) a nitráton az O és N közti kötés hasad, és a nitrit leválik az enzimről (2). Ezután a Moco NAD(P)H felhasználásával redukálódik (3).

A nitrit ammóniává történő redukcióját a **nitrit-reduktáz** katalizálja (**6.11. ábra**). Az enzim egy Fd-kötő és egy reduktáz doménből épül fel. A reduktáz doménben kötött kofaktor egy kénhíddal összekapcsolt Fe_4-S_4 centrum és sirohem. Az utóbbi a porfirin bioszintézis egy korai terméke. A nitrit-reduktázon is egy rövid elektrontranszportlánc van: az elektron a redukált Fd-ról (E_m ~420 mV) a Fe_4-S_4 centrumon (E_m ~390 mV) és sirohemen (E_m ~270 mV) keresztül a nitritre jut. A nitrit a sirohemhez kötődik és redukciója során az intermedierek (pl. NH_2-OH) végig kötöttek.

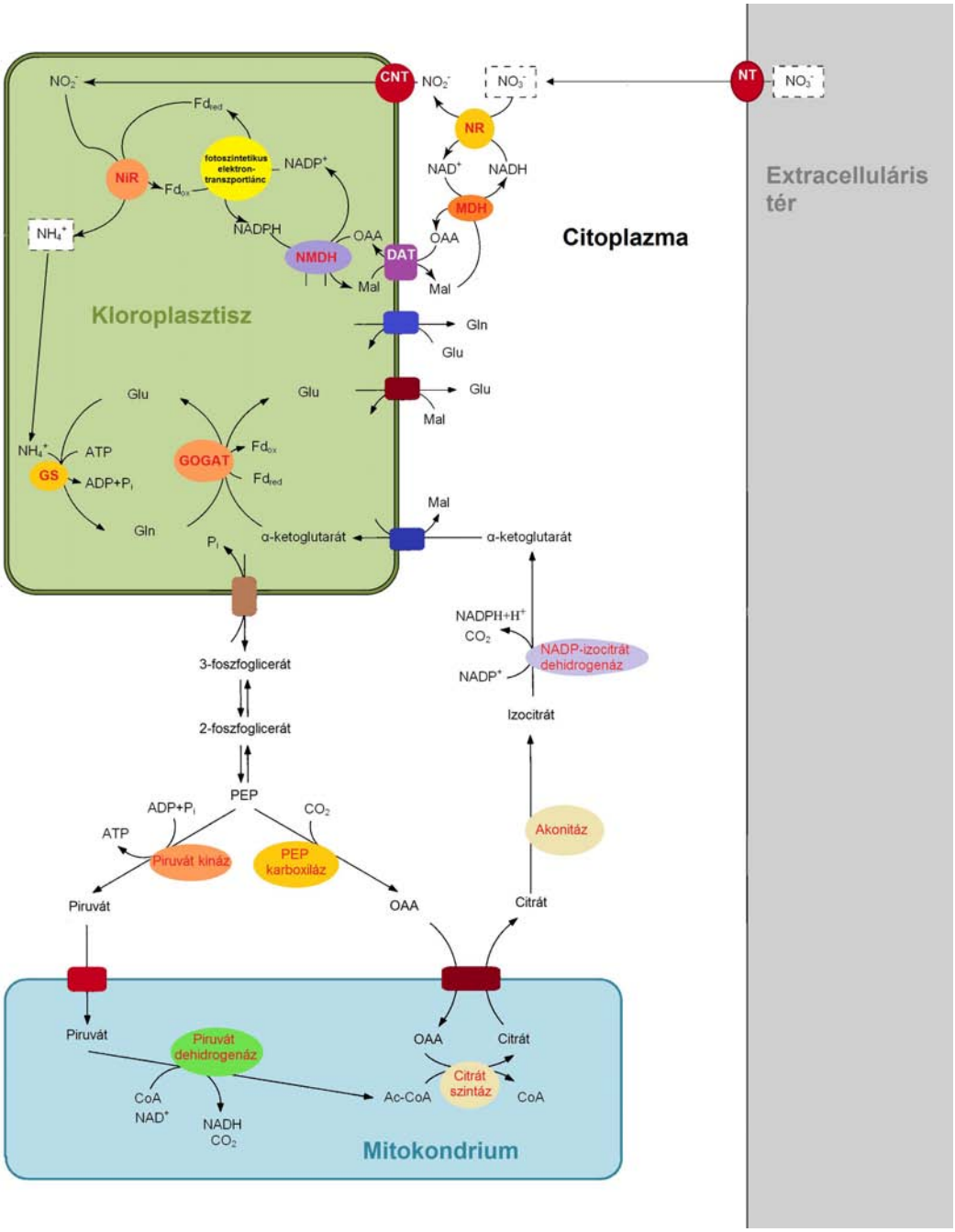


6.11. ábra A nitrit-reduktáz felépítése és működése. (A) A nitrit-reduktáz egy Fd-kötő és egy reduktáz domént tartalmaz ((Swamy és mtsai, 2005, American Chemical Society, 2013 engedélyével reprodukálva). A Fd egy

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Fe_2-S_2 centrumot tartalmaz. A reduktáz doménben kötött kofaktor egy kénhíddal összekapcsolt Fe_4-S_4 centrum és sirohem. (B) A sirohem szerkezete. (C) A nitrit redukciójakor az elektron donor a redukált Fd, ami a levélben a fotoszintetikus elektrontranszportlánc működése során, a gyökérben viszont az oxidatív pentózfoszfát-ciklusban termelt NADPH-val működő NADPH:Fd-oxidoreduktáz által katalizált reakcióban keletkezik. OPP – oxidatív pentózfoszfát-ciklus.

A sejtek citoplazmájában működő nitrát-reduktázok NADH-, NADPH-, vagy NADH/NADPH-függő izoformáit ismerjük. A levelekben elsősorban a NADH-t felhasználó izoforma található, míg a gyökerek a NADH-val és a NADPH-val (kb. 20%-ban) működő izoformát is tartalmazzák. A nitrátredukcióhoz szükséges NADH-t a levélsejtek citoplazmájában a NADH-függő malát-dehidrogenáz termeli (ld. **6.12. ábra**). A redukálóerő azonban tulajdonképpen fotoszintetikus eredetű, mivel a malátot egy kloroplasztiszban működő NADPH-függő malát-dehidrogenáz izoenzim hozza létre a mitokondriumból/citoszolból transzportálódó OAA és a fotoszintetikusan termelt NADPH felhasználásával. Ráadásul, ezt az enzimet is a tioredoxin-reduktáz/tioredoxin rendszer aktiválja, hasonlóan a Calvin-ciklus egyes enzimeihez, azaz csak fényen működik. A malát és az OAA dikarboxilát transzporterek közvetítésével mozog a kompartmentek közt.



XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

6.12. ábra A nitrátasszimiláció kapcsolata a sejtanyagcserével a levélsejtekben. A nitrát nitritté történő redukciójához szükséges NADH-t a citoplazmatikus malát-dehidrogenáz hozza létre. Ez a malát azonban a kloroplasztiszban képződik OAA-ból és a fotoszintetikusan termelt NADPH-ból egy NADP-specifikus malát-dehidrogenáz működésének eredményeként. A kloroplasztiszba jutó nitrit redukciójához az elektron donor a fotoszintetikusan termelt redukált Fd. A képződött ammónium beépülése szintén a fotoszintetikusan termelt ATP (GS) és redukált Fd (GOGAT) felhasználásával történik. Az ammónium asszimilációhoz szükséges szénváz a fotoszintetikusan fixált szén-dioxidból keletkező, a kloroplasztiszból kijutó DHAP-ból jön létre, illetve az abból glikolitikusan keletkező piruvátból és a PEP karboxilációja során keletkező OAA-ból. Ezekből a mitokondriumban, a citrát-ciklusban citrát képződik, ami OAA-citrát antiporttal kijut a citoplazmába, ahol a citoplazmatikus akonitáz és NADP-izocitrát-dehidrogenáz izoenzimek 2-oxoglutarátot képeznek. Ez, bejutva a kloroplasztiszba, felhasználódik az ammónium megkötéséhez. A folyamat végterméke, a glutamin szállítódhat el a sejtből. A szerves savak karboxilát-transzporterek közvetítésével mozognak a kompartmentek között. CNT – kloroplasztisz nitrit-transzporter, NR – nitrát-reduktáz, NiR – nitrit-reduktáz, MDH – NAD-malát-dehidrogenáz, NMDH – NADP-malát-dehidrogenáz, NT – nitrát-transzporter. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

A gyökérsejtekben a citoplazmatikus NADH a glikolízis, a NADPH az oxidatív pentózfoszfát-ciklus terméke. A nitrát redukciója során képződő nitrit a kloroplasztisz nitrit-transzporter közvetítésével jut be a plasztiszba. A levélsejtek kloroplasztiszaiban a nitrit redukciójához szükséges elektronokat közvetlenül a fotoszintetikus elektrontranszport során képződő redukált Fd biztosítja. A gyökérsejtek plasztiszaiban folyó nitrit redukció esetében is redukált Fd a reduktáns, de ez – hasonlóan, mint a szimbiotikus nitrogénfixáció során – enzimatikusan keletkezik, egy NADPH:Fd-oxidoreduktáz enzim hozza létre. A NADPH forrása a plasztiszban lokalizált oxidatív pentózfoszfát-ciklus. (A gyökérsejtek plasztiszai képesek a flolémben odaszállított cukrokból keletkező hexózok és ATP felvételére is.)

6.1.2.3. Az ammónia beépülése

A nitrát redukciója során képződött **NH_4^+ beépülés**e Glu-ba (és a C_3-as növényekben a fotorespiráció során felszabaduló ammónia, ami 5-10-szerese is lehet az előbbinek, újrafixációja is) a GS-GOGAT rendszer segítségével történik, azaz hasonlóan, mint a szimbiotikus nitrogénfixáció során, azzal a különbséggel, hogy mindkét enzim a (kloro)plasztiszban lokalizált. Az ammónia beépüléséhez energia (GS működéséhez), reduktáns (GOGAT működéséhez) és szénváz (OG) szükséges (**6.12. ábra**). Az ATP a fotoszintetikus/oxidatív foszforiláció terméke a levélben/gyökérben. A reduktánsok forrása ugyanaz, mint a nitrit redukció esetében. Az OG végső soron a fotoszintetikusan fixált CO_2-ból származik. A levélsejt kloroplasztiszaiból a trióz-P-transzporter közvetítésével redukált szénvegyület, DHAP jut ki a citoplazmába, ahol a glikolízis reakciói során PEP-tá és piruváttá (majd a mitokondriumban Ac-CoA-vá) alakul. A növényekben általánosan (nemcsak a C_4-esekben) jelenlévő PEP-karboxiláz a PEP-ot OAA-tá alakítja, ami karboxilát transzporteren keresztül bejut a mitokondriumba. A citrát-ciklusban Ac-CoA-ból és OAA-ból keletkező citrát egy része az OAA-tal cserélődve kijut a citoplazmába, ahol a citoplazmatikus akonitáz és NADP-izocitrát-dehidrogenáz izoenzimek OG-tá alakítják. A citoszolban képződött OG karboxilát-transzporter közvetítésével (malát/OG csere) jut be a (kloro)plasztiszba. A képződő glutamát szintén karboxilát-transzporter közvetítésével, glutamát/malát antiporttal jut ki a citoplazmába. A gyökérsejtekben a szénváz a floémben odaszállítódó szénhidrátokból kiinduló glikolízis és a továbbiakban a fentebb leírt reakciók során jön létre.

6.1.2.4. A nitrátasszimiláció szabályozása

Mivel a nitrátredukció folyamatához szorosan kapcsolódik a nitrátfelvétel, a pH-reguláció (a nitrátredukció a citoplazmát lúgosítja), a szénhidrátellátás, az ammónium-asszimiláció és az aminosav-szintézis, a nitrátasszimiláció regulációja a mindezeket a folyamatokat szabályozó, transzkripciós és poszttranszkripciós szinten is működő, bonyolult regulációs hálózat része.

A nitrátfelvétel szabályozása elsősorban **transzkripciós** szinten történik. Amikor a növény gyökerei NO_3^--ban gazdag talajrészhez érnek, a NO_3^--felvételben egy gyors, perces nagyságrendű növekedés figyelhető meg, ami a **nitrát-transzporter** gének expressziójának köszönhető. A válasz lokális szignálja a nitrát, szenzora egy nitrát-transzporter (AtNRT1.1). A lokális válasz integrálódik a növény N-ellátottságával (auxin közvetíti), ami domináns, és feedback regulálja a transzportereket transzkripciós, transzlációs és poszt-transzlációs szinten is. A szénhidrátellátás napi fluktuációja, azaz a floémen keresztül a gyökérbe kerülő szénhidrátok is fontos pozitív szignálok a nitrát-transzporterek expressziójában. Ez elősegítheti a NO_3^- felvétel és a C-asszimiláció kölcsönös regulációját. Hosszabb távon, a nitrát rendelkezésre állása az oldalgyökerek és a levelek növekedését is befolyásolja.

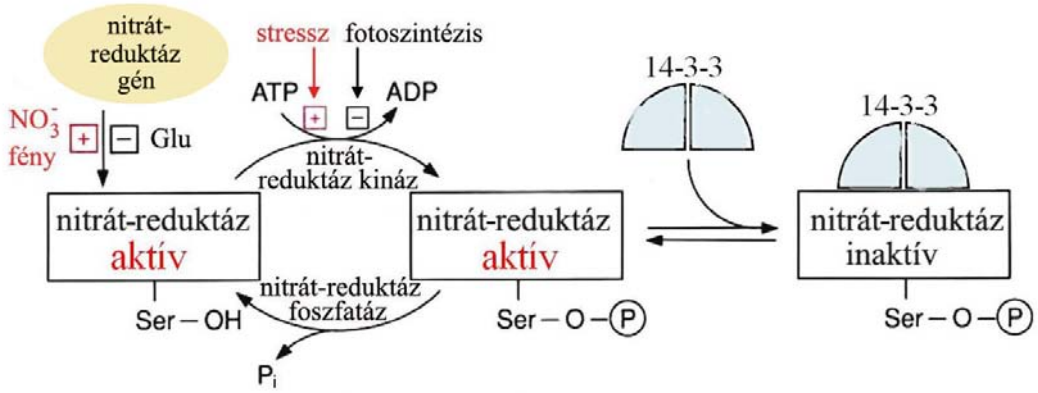
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A nitrátredukció regulációjának fő célpontja a **nitrát-reduktáz** enzim. Ennek fő oka, hogy a nitrát-reduktáz terméke toxikus. A nitriten kívül egyéb veszélyes termékeket is létrehozhat. Képes a NADH-ról az oxigénre is elektront transzportálni, így szuperoxid képződik. Ha a nitrit redukciója gátolt, akkor a nitrát-reduktáz nitrit-reduktáz aktivitása révén (a RuBisCO oxigenáz aktivitásához hasonlóan elkerülhetetlen) NO képződik:

$$NAD(P)H + 3H_3O^+ + 2NO_2^- \rightarrow NAD^+ + 2NO + 5H_2O$$

O_2 és NAD(P)H jelenlétében a nitrát-reduktáz peroxinitrit iont ($ONOO^-$) is termelhet, ami a tirozin oldalláncokat nitrozilálva inaktiválja a fehérjéket.

A nitrát-reduktáz transzkripciós és poszttranszlációs szinten is szabályozott (**6.13. ábra**). A nitrát- és a nitrit-reduktáz transzkripcióját a nitrát, a fény (fitokróm, szénhidrátok) és a redukált N-vegyületek is szabályozzák. A citoplazmatikus nitrát koncentráció változása, ami elsősorban a **nitrát fluxus**tól függ, a legfontosabb transzkripciós szintű szabályozó tényező. Mivel a nitráttal történő indukció nem igényel protein szintézist, a transzkripciós faktorok feltehetően konstitutívan expresszálódnak és a nitrát kötődésével aktiválódnak. A NO_3^- számos **más**, a nitrát asszimilációval összefüggő **enzim** (NADP-malát-dehidrogenáz, PEP-karboxiláz, GS, izocitrát-dehidrogenáz) transzkripcióját is aktiválja. A **fitokróm**ok bázikus leucin zipper transzkripciós faktorokat aktiválva növelik a nitrát-reduktáz transzkriptumokat. Ugyanakkor, a magas **glutamát** és az **alacsony szénhidrátszint** a génexpresszió represszora. A nitrát-felvétel fluktuációja következtében a nitrát-reduktáz és nitrit-reduktáz transzkriptumok napi ritmust mutatnak (részletesebben ld. később), de csak a nitrát-reduktáz-protein szintje mutat jelentős napi változást. Az utóbbi fél-élettartama csak néhány óra, a proteázok az aktivitás szintjétől függetlenül gyorsan lebontják, mennyisége tehát elsősorban a szintézis függvénye.



6.13. ábra A nitrát-reduktáz transzkripciós és poszt-transzlációs szabályozása. A nitrát-reduktáz gén transzkripcióját a nitrát rendelkezésre állása, valamint a fény (szénhidrátok, fitokróm) pozitívan, míg a magas glutamát szint negatívan befolyásolja. A poszt-transzlációs szabályozásban fontos szerepe van a nitrát-reduktáz kinázzal történő foszforilációjának, ami fény hiányában vagy stressz hatására következhet be, és ezt követően a nitrát-reduktáz 14-3-3-protein kötésével inaktiválódik. Az inaktivált nitrát-reduktáz a 14-3-3-protein leválásával, majd foszfatázzal történő defoszforilációval újra aktív állapotba kerülhet.

Poszt-transzlációs szintű regulációs folyamatok néhány perc alatt inaktiválhatják a **nitrát-reduktáz**t (**6.13. ábra**). Az inaktiváció úgy történik, hogy protein-kinázzal (nitrát-reduktáz-kináz) történő **foszforilációt követően, Mg^{2+} jelenlétében, dimer 14-3-3 protein kötődik** a nitrát-reduktázhoz. Ez fény hiányában (a fotoszintézis a nitrát-reduktáz inaktivációját megindító protein-kinázt gátolja) vagy stressz hatására következik be. Az inaktivált nitrát-reduktáz a 14-3-3 protein leválásával és defoszforilációval reaktiválódhat, vagy a körülmények változatlansága esetén proteolitikusan lebomlik.

A 14-3-3 proteinek minden eukarióta sejtben (a citoplazmában, a kloroplasztiszban és a sejtmagban is) megtalálható konzervatív regulátor molekulák. Legjellegzetesebb tulajdonságuk más proteinekkel való kapcsolódási képességük, ami a célproteinek aktivációjával vagy inaktivációjával jár. Gyakran kapcsolódnak a szignalizációban résztvevő kinázokhoz, foszfatázokhoz, transzmembrán receptorokhoz. Nevüket arról kapták, hogy felfedezésük során a marha agy homogenátum DEAE-cellulóz kromatográfiával történő szétválasztásakor a 14. frakcióban jelentek meg, és az azt követő keményítő gélelektroforézis után a 3.3 pozícióban jelentek meg.)

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A nitrátasszimiláció **egyéb enzim**einek aktivitását is számos poszt-transzlációs szintű regulációs folyamat befolyásolja. A citoplazmatikus enzimek aktivitása foszforilációs folyamatok (és 14-3-3 protein kötése) következtében változik. A szacharóz-P-szintáz ezek következtében inaktiválódik (a szénvázak, elszállítódás helyett, nitrátasszimilációhoz használódnak fel), a PEP-karboxilázt pedig a foszforiláció aktiválja. A kloroplasztiszban működő enzimeket (NADP-malát-dehidrogenáz, kloroplasztisz dikarboxilát-transzporter, nitrit-reduktáz, GS, GOGAT) viszont a Calvin-ciklus egyes enzimeihez (GA3PDH, Fr1,6BPáz, Se1,7BPáz, PRkináz) hasonlóan a Fd:tioredoxin-reduktáz/tioredoxin rendszer aktiválja.

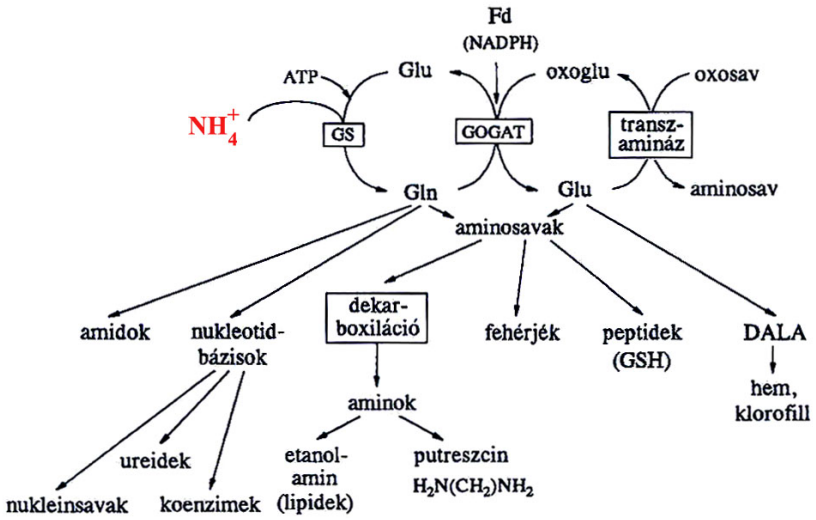
A **metabolit szabályozás** is fontos szerepet játszik. A glutamin a GOGAT génexpressziós aktivátora. A glutamát viszont a GOGAT aktivitás feedback inhibitora, a PEPC és a PK allosztérikus gátlója. Az alacsony cukorszint általában csökkenti az aminosavak szintézisét, de az aszparagin szint megemelkedik, és a magas aszparagin szint gátolja a nitrát-reduktáz génexpresszióját még magas nitrát koncentráció esetén is. A cisztein mennyisége pedig valószínűleg N- és kénanyagcserét összehangoló szignál.

A nitrátasszimiláció és a kapcsolt metabolikus folyamatok kölcsönös regulációja a **nitrátasszimiláció diurnális ritmusá**ban nyilvánul meg. Reggelre, az éjszaka is folyó nitrát transzport miatt, megnő a citoplazmatikus nitrát koncentráció és ennek következtében a nitrát-reduktáz transzkriptum szintje. A nitrát-reduktáz aktivitás is ekkor maximális, a megvilágítás ugyanis stimulálja a transzlációt, és gyors poszt-transzlációs aktivációt okoz. Hasonló maximumot mutat a nitrit-reduktáz, GS és a PEP-karboxiláz génexpressziója is. A PEP-karboxiláz aktiválódása a pH-regulációval kapcsolatos malát szintézissel függ össze: a nagymértékű nitrátredukció ugyanis lúgosítja a citoplazmát, a citoplazma pufferkapacitása kicsi, a pufferolás malát felhalmozással történik. A fényperiódus első részében a nitrátredukció 2x gyorsabb, mint a nitrát felvétel és kb. 50%-kal haladja meg az ammónium asszimiláció sebességét. Ez a citoplazmatikus nitrát koncentráció gyors csökkenéséhez és glutamin felhalmozódáshoz vezet. Az ezt követő délelőtti időszakban megfigyelhető a piruvát-kináz, citrát-szintáz, izocitrát-dehidrogenáz és GOGAT génexpresszió emelkedése, ami helyreállítja a nitrátredukció és az ammónium-beépítés egyensúlyát. Ez a GOGAT esetében génexpressziós (glutamin) és metabolikus (OG) aktivációnak tulajdonítható. A délutáni időszakban a nitrátredukció a felére csökken, illetve éjszaka elhanyagolható. Ezek a változások a nitrát-koncentráció csökkenése következtében fellépő nitrát-reduktáz génexpresszió- (a degradáció előtérbe kerül) és aktivitás-csökkenéssel (termék gátlás, fotoszintetikus aktivitás csökkenése), illetve, sötétedés után, a nitrát-reduktáz poszttranszlációs inaktivációjával/lebomlásával függenek össze.

6.1.3. Egyéb nitrogéntartalmú anyagok képződése és szerepe a növényekben

Az ammónia beépülését követően a glutamát/glutamin amino-csoportját α-ketosavaknak adhatja át aminosavak keletkezése közben (transzamináció) (**6.14. ábra**). A transzaminációs reakciókat aminotranszferázok katalizálják. Megtalálhatók a citoplazmában, a kloroplasztiszban, a mitokondriumban, glioxiszómában és peroxiszómában. (Részletesebben ld. az aminosav anyagcsere fejezetben.) A képződő aminosavak a peptidek és fehérjék prekurzorai. Az aminosavak dekarboxilációjával képződő di- és poliaminok fontosak a sejtek kation-anion egyensúlyának és stabil pH-jának fenntartása szempontjából. A glutamát a δ-ALA prekurzoraként a kloroplasztiszokban folyó hem- és klorofillszintézisben is fontos szerepet játszik. A glutamin a nukleotid bázisok, a koenzimek, az ureidek és az amidok N-forrása.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

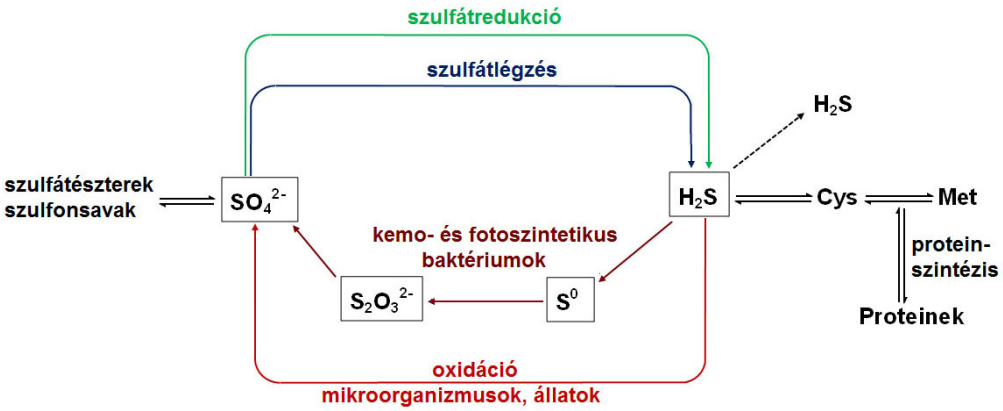


6.14. ábra Az ammónium-asszimiláció termékeinek felhasználása az egyéb nitrogéntartalmú anyagok szintézisében. Az ammónium beépülését követően a glutamát/glutamin amino-csoportját α-ketosavaknak adhatja át aminosavak keletkezése közben. A képződő aminosavak a peptidek és fehérjék prekurzorai. Az aminosavak dekarboxilációjával di- és poliaminok képződnek. A glutamát a δ-ALA prekurzoraként a hem- és klorofill szintézis prekurzora. A glutamin a nukleotid bázisok, a koenzimek, az ureidek és az amidok N-forrása.

6.2. A kén asszimilációja a növényekben

A légkörben az égési folyamatok és vulkanikus működés eredményeként kéndioxid és kénhidrogén lehet jelen. Biológiailag képződő gáznemű termékek is kerülhetnek a légkörbe, mint pl. a fitoplanktonok által termelt dimetilszulfonium-propionát (**DMSP** – ozmoprotektáns, krioprotektáns, planktonevés gátlója) bakteriális bontásakor képződő dimetilszulfid. A talajoldatokban szulfát van jelen, ami vasszulfidok és szerves vegyületek oxidációjának, illetőleg a kéndioxid oldódásának az eredménye. Az emberi tevékenység eredményeként is juthatnak kénvegyületek a talajba és a vizekbe, pl. alkilszulfonátok (detergensek).

A kén körforgalom (**6.15. ábra**) során az oxidatív környezetben leggyakoribb kénvegyület, a szulfát **redukció nélkül**, szulfátészterek és szulfatált vegyületek (pl. szulfonsavak) formájában is **beépül**het az élő szervezetekbe. Az autotróf élőlények, a növények és a mikroorganizmusok egy része, azonban képesek a szulfátot szulfiddá redukálni (**szulfátredukció**) és ezt szerves vegyületekbe, elsődlegesen ciszteinbe beépíteni. Egyes anaerob baktériumok (*Desulfovibrio, Desulfatomaculum*) is redukálhatják szulfátot szulfiddá, de ezek a szulfátot a légzési lánc végső akceptoraként használják (**szulfátlégzés**). A szulfid különböző mértékű **oxidáció**jára az élő szervezetek többsége képes, kemoszintetikus baktériumok, a fotoszintetizáló kénbaktériumok (a redukált kénvegyületeket elektron donorként használják), valamint a növények és állatok is.



XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

6.15. ábra A kén körforgalma a természetben. A szulfát redukció nélkül beépülhet szulfátészterekbe, szulfonsavakba. Autotróf redukciója során szulfid keletkezik, ami ciszteinbe/kéntartalmú aminosavakba épül be. Anaerob szervezetekben a légzési lánc végső akceptoraként is redukálódhat (szulfátlégzés). Oxidációjára minden élő szervezet képes, a foto- és kemoszintetizáló baktériumok a redukált kénvegyületeket elektron donorként használják.

A növények számára az alapvető kénforrás a talajvizekben oldott szulfát, de bizonyos mértékben a kénhidrogén és a kéndioxid hasznosítására is képesek. Egyes szervezetek (*Chlorella*, kékbaktériumok) még az alkilszulfonátokat is lebontják. Ezzel magyarázható, hogy az iparosított területeken ritkábban figyelhető meg kénhiány. Kénpótlásra inkább a tisztább levegőjű, északi területek növénykultúrái szorulhatnak.

A S a növények makrotápelemei közül a legkisebb mennyiségű (a N 7%-a), de igen sokféle, oxidált és redukált formában is megtalálható a növényekben (**6.1. táblázat**).

6.1. táblázat A szerves kénvegyületek típusai a növényekben

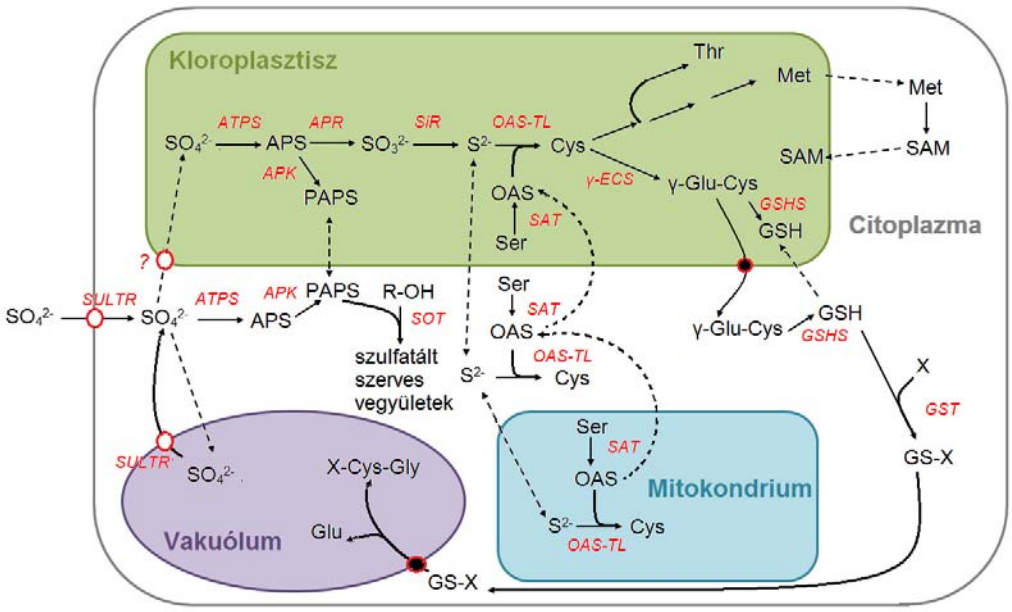
Vegyülettípus	Struktúra	oxid. szám	Példák
tiol	R-SH	-2	cisztein, glutation, KoA
tioéter	R-S-R_1	-2	H_2S, L-metionin
szulfoxid	R-S(=O)-R_1	+4	Allicin (hagyma ízanyaga)
Metilszulfonium vegyület	$(CH_3)_2$-S^+-R	+4	Adomet, S-metil-metionin, DMSP
Szulfát észterek	R-O-SO_3^-	+6	Poliszaharid-, fenol szulfátok
Szulfamátok	R=N-O-SO_3^-	+6	Mustárolaj glükozidok
Szulfonsavak	R-SO_3^-	+6	Szulfokinovozil-diacilglicerol

A sokféle kénvegyület számos fontos élettani szerepet tölt be. A szulfid, nukleofil jellege miatt, erősen reaktív. Fe-S centrumként ideális a redox reakciókban, jelentős szerepet játszik a kloroplasztiszok és a mitokondriumok redox rendszereiben. A szulfhidril csoportok fontosak az enzimkatalízisekben, a csoporttranszfer reakciókban (Co-A), és a strukturális és regulációs jelentőséggel bíró diszulfid-hidakban. Más kénvegyületek reaktív oxigén gyököket és egyéb toxikus anyagokat detoxifikáló mechanizmusokban (glutation, fitokelatinok), szignalizációban (nod-faktor, tioredoxinok) és riasztó- vagy antimikrobiális hatású védőanyagokként (allicin, DMSP) funkcionálnak.

6.2.1. Szulfátasszimiláció

A talajoldatokból felvett szulfát vagy a gyökér- és levélsejtek vakuólumaiba kerül, vagy a szulfátasszimiláció során a citoplazmában redukció nélkül beépül, illetve a plasztiszokban szulfiddá redukálódik (**6.16. ábra**). A szulfát redukciója elsősorban a levelekben történik. A képződő szulfid elsődlegesen ciszteinbe épül be. A tárolható és szállítható redukált S-vegyület azonban nem a cisztein, ami nagyobb koncentrációban toxikus, hanem a **glutation** (**GSH**). Egyes szervezetekben a kén más formában is felhalmozódhat, pl. a *Desmarestia* barnamoszatban kénsav (pH 0,5-0,8), a *Chara* rhizoidokban pedig $BaSO_4$ kristályok formájában található.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



6.16. ábra A szulfátasszimiláció folyamata a levélsejtekben (Takahashi és mtsai, 2011, módosítva). A szulfát szulfát-transzporterek közvetítésével jut be a sejtbe és a kloroplasztiszba, míg uniporttal a vakuólumokba. Szulfáthiány esetén a vakuólum pool is felhasználódhat. A szulfát beépülés előtt aktiválódik, APS (ATP-szulfuriláz), illetve PAPS (APS-kináz) képződik, amelyek a szulfátredukció, illetve a szulfáttranszfer reakciók kiindulási termékei. Az aktivációs reakciók a citoplazmában és a kloroplasztiszban is végbemennek. A szulfáttranszfer-reakciók a citoplazmában, a szulfátredukció a kloroplasztiszban történik. A szulfát redukcióját szulfittá az APS-reduktáz, a szulfit redukcióját szulfiddá a szulfit-reduktáz katalizálja. Az OAS keletkezése (szerin-acetiltranszferáz) és a szulfid beépülése ciszteinbe (OAS:tiol-liáz) a kloroplasztiszban, a citoplazmában és a mitokondriumban is végbemehet. A GSH szintézise során először a glutamin γ-aminocsoportján keresztül a ciszteinnel képez peptidkötést (γ-glutamilcisztein-szintetáz), majd egy glicin kapcsolódásával GSH keletkezik (GSH-szintetáz). Az előbbi folyamat csak a kloroplasztiszban, az utóbbi a citoplazmában is végbemegy. A GSH számos anyagot megköthet/inaktiválhat (glutation-S-transzferáz), és a konjugátumok a vakuólumokba szállítódnak. APK – APS-kináz, APR – APS-reduktáz, APS – adenozin-5'-foszfoszulfát, ATPS – ATP-szulfuriláz, γ-ECS – γ-glutamil-cisztein-szintetáz, GSHS – glutation-szintetáz, GST – glutation-S-transzferáz, OAS – O-acetilszerin, OAS-TL – OAS:tiol-liáz, PAPS - 3'-foszfoadenozin-5'-foszfoszulfát, SAM – S-adenozil-metionin, SAT – szerin-acetiltranszferáz, SiR – szulfit-reduktáz, SOT – szulfotranszferáz, SULTR – szulfát transzporter, X – GSH-val inaktivált anyagok.

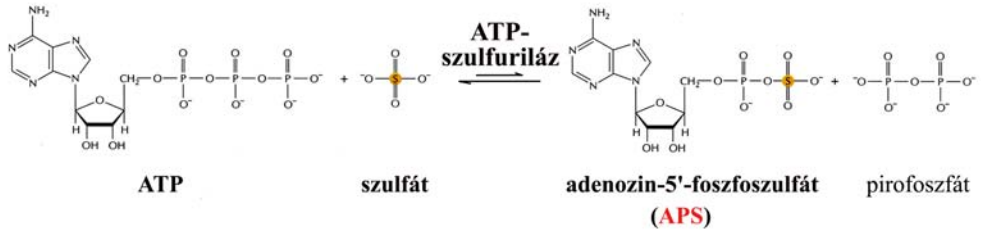
6.2.1.1. A szulfát felvétele

A sejtbe bejutó szulfát redukciója a plasztiszokban történik, tehát át kell jutnia a plazmalemmán és a plasztiszok határoló membránjain is. A **plazmalemma transzporterek** konstitutív és indukálható (gyökérben), kis és nagy affinitású 12 hélixes permeázok, amelyek $3H^+/SO_4^{2-}$ szimporttal működnek. A SO_3^{2-}, SeO_4^{2-}, MoO_4^{2-}, CrO_4^{2-} a szulfát felvétel kompetitív gátlói. A szulfát a plasztiszokba plazmalemmaszerű transzporterek vagy a **triózfoszfát transzlokátor** (antiport) közvetítésével, a vakuólumba pedig uniporttal juthat be. A vakuólumból történő szulfát efflux viszont transzporterek közvetítésével történik. Ennek szulfáthiány esetén van jelentősége.

6.2.1.2. A szulfát aktivációja

A szulfát aktivált formában képes redukálódni/beépülni szerves anyagokba. Az aktiváció során a szulfát az ATP két terminális foszfátját helyettesítve **adenozin-5'-foszfoszulfát**ot (**APS**-t) képez (**6.17. ábra**). A foszfát-kénsavanhidrid-kötés nagyenergiájú, aktiválja a szulfátot a reakciókban való részvételre. A reakciót az **ATP-szulfuriláz** katalizálja:

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

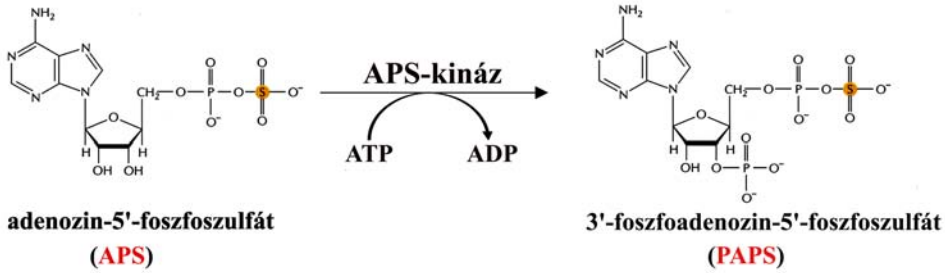


6.17. ábra A szulfát aktivációja.

Az enzim közel 90%-ban plasztiszban lokalizált. SeO_4^{2-} és MoO_4^{2-} ionokat is felhasznál, de ilyenkor a képződött termék instabil, spontán bomlik. A reakció egyensúlya az ATP képződés irányába eltolt. Az APS képződés felé a termékek eltávolítása, az APS felhasználása és a $PP_i \rightarrow P_i$ bontása (pirofoszfatázzal) hajtja.

6.2.1.3. Szulfáttranszfer reakciók

A szulfáttranszfer reakciók során a szulfát redukció nélkül épül be szerves anyagokba. Így szulfát észterek, szulfamátok, szulfonsavak képződnek. A reakciókhoz felhasznált aktivált szulfát a **3'-foszfoadenozin-5'-foszfoszulfát** (**PAPS**). Ez az APS-ből képződik ATP felhasználásával (**6.18. ábra**). A reakciót az **APS-kináz** katalizálja:



6.18. ábra A szulfáttranszfer reakciókhoz felhasznált aktivált szulfát-vegyület képződése.

A szulfát transzfert a PAPS-ról szerves vegyületekre a **szulfotranszferáz**ok közvetítik:

$PAPS + R\text{-}OH + ATP \rightarrow R\text{-}O\text{-}SO_3 + PAP + ADP$

6.2.1.4. A szulfát redukciója és beépülése ciszteinbe

A szulfátredukció során a szulfát szulfiddá redukálódik:

$SO_4^{2-}(+6) + ATP + 8e^- + 8H^+ \rightarrow S^{2-}(-2) + 4H_2O + AMP + PP_i$

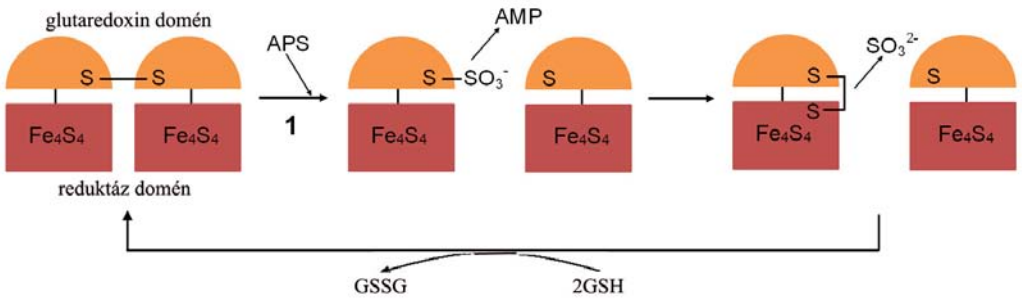
A redukció teljes egészében a plasztiszban megy végbe két lépésben. A szulfát redukcióját szulfittá az APS-reduktáz, a szulfit redukcióját szulfiddá pedig a szulfit-reduktáz katalizálja.

$APS + 2GSH \rightarrow SO_3^{2-} + GSSG + AMP + 2H^+$ (1)

$SO_3^{2-} + 6Fd^- + 6H^+ \rightarrow S^{2-} + 6Fd + 3H_2O$ (2)

Az **APS-reduktáz** enzim dimer, amely egy reduktáz (APS specifitását egy Fe_4-S_4 centrum biztosítja, ami megkülönbözteti a baktériumokban működő, hasonló reakciót katalizáló PAPS-reduktáztól) és egy glutaredoxin domént tartalmaz (**6.19. ábra**). Ez utóbbin található ciszteinek a két alegységet diszulfid-híddal kapcsolják össze. Az APS-ben kötött aktivált szulfát a diszulfid-hidat alkotó egyik cisztein szulfidjához kapcsolódva tioészter kötésbe kerül (1). Redukció után szulfit válik le, miközben az enzim oxidálódik intramolekuláris diS híd képződése közben (2). Az oxidált enzim azután GSH felhasználásával redukálódik (3).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



6.19. ábra Az APS-reduktáz működése (Kopriva és Koprivova, 2004, módosítva).

Az oxidált glutation (GSSG) redukciója a **glutation-reduktáz** segítségével, a fotoszintetikusan, illetve az oxidatív pentózfoszfát-ciklusban termelt NADPH felhasználásával történik:

$GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2\ GSH$

A **szulfit-reduktáz** szekvencia homológiát mutat a nitrit-reduktázokkal, mindkettő az anion-redox-enzimek családjába tartozik. Felépítésük, kofaktoraik és működésük hasonló. A szulfit-reduktáz szabad szulfit→szulfid redukciót katalizál redukált Fd, mint reduktáns felhasználásával. Az elektrontranszportban az enzim kofaktora, a kénhíddal kapcsolt Fe_4S_4 centrum és sirohem, vesz részt. A redukció során a szulfit a sirohemhez kapcsolódik. Az enzim nitrit redukciójára is képes, bár a szulfit-affinitása két nagyságrenddel nagyobb. Konstitutívan expresszálódik (a szulfit is mérgező, mint a nitrit).

A növények a szulfátredukció során képződő szulfidot **O-acetilszerin** (**OAS**) felhasználásával először ciszteinbe építik be (**6.16. ábra**). Az OAS képződését a **szerin-acetiltranszferáz** katalizálja (1), amihez Ac-CoA formájában aktivált acetil-csoportot használ fel, a szulfid beépítését pedig az **OAS:tiol-liáz** enzim végzi (2):

$Ser + Ac\text{-}CoA \rightarrow OAS + CoA$ (1)

$OAS + S^{2-} + 2H^+ \rightarrow Cys + acetát$ (2)

A szulfid a kloroplasztiszban, a legtöbb OAS a mitokondriumban képződik, a ciszteinszintézis fő helye pedig a citoplazma. Tehát hatékony szulfid, OAS és cisztein transzportnak kell működnie az organelláris membránokon keresztül.

6.2.1.5. A glutation szintézise

A GSH egy tripeptid, γ-L-glutamil-L-ciszteinil-glicin. Nem transzlációval, hanem enzimatikus reakciókkal jön létre. A peptid kötésben a glutamát γ-karboxil-csoportja vesz részt. Szintézise két energiaigényes lépésben történik, amit a **γ-glutamil-cisztein-szintetáz** (1) és a **glutation-szintetáz** (2) enzimek katalizálnak. Az első lépés csak a plasztiszban, a második lépés a plasztiszban és a citoplazmában is végbemehet (**6.16. ábra**).

$Glu + Cys + ATP \rightarrow \gamma\text{-glutamil-}Cys + ADP + Pi$ (1)

$\gamma\text{-glutamil-}Cys + Gly + ATP \rightarrow GSH + ADP + Pi$ (2)

A glutation, azon kívül, hogy a redukált kén tárolható és transzportálható formája, fontos szerepet tölt be a sejt redox-egyensúlyának fenntartásában, a reaktív oxigénformák eliminálásában. Számos vegyülettel képez konjugátumot (a **glutation-S-transzferáz** katalizálja), ami tárolható formák (pl. hormonok) vagy detoxifikált és a vakuólumba kerülő hulladékok (pl. herbicidek, a klorofill bomlástermékei) kialakulását jelenti. Speciális esetet képviselnek a nehézfémstressz hatására a **fitokelatin-szintáz** által glutation egységekből létrehozott oligomerek, a **fitokelatinok**, $(\gamma\text{-GluCys})_n\text{-Gly}$, ahol n=2-11. Ezek szulfhidril csoportjai megkötik, detoxifikálják a nehézfém ionokat, majd a komplex a vakuólumba kerül.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

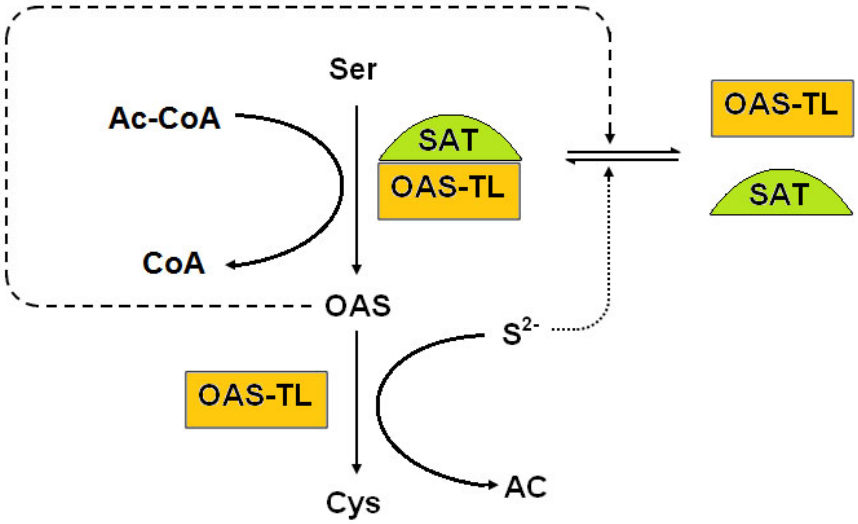
6.2.1.6. A szulfátasszimiláció regulációja

A szulfátasszimiláció a fiatal szövetekben a legintenzívebb, ahol ez a protein szintézishez a leginkább szükséges, öreg szövetekben viszont erősen csökken.

A szulfátasszimiláció szabályozása elsősorban a **transzporterek** és az **APS-reduktáz transzkripció**ját befolyásolja. A szulfit-reduktáz konstitutív (mérgező szulfit eltávolítása). A szulfát hiány a fenti enzimek génexpresszióját indukálja, a transzporterek indukciója azonban sokkal erősebb a gyökérben, mint a levelekben. A S-ellátottság hajtás gyökér szignalizációjában valószínűleg a cukrok, a GSH és az OAS játszik fő szerepet, de a hormonok (citokininek, stressz-hormonok) is befolyásolják. A citokininek a transzporterek expresszióját befolyásolják. A jazmonát és a szalicilátok APS-reduktáz mRNS szint és aktivitásnövekedést indukálnak. Stressz hatására tehát a S-anyagcsere intenzívebbé válik (stresszvédő/detoxifikáló anyagok keletkezése).

Poszttranszkripciós regulációs mechanizmusok is közreműködnek a szulfátasszimiláció szabályozásában. Kimutatták például, hogy az **APS-reduktáz** dimert a feleslegben lévő tiolok inaktív monomerré redukálják. A glutationszintézis kulcsenzimének, a **γ-glutamil-cisztein szintetáz**nak az aktivitása a sejt redox állapotától függ, a stressz hatására kialakuló oxidatív körülmények között aktiválódik a szulfhidril-csoportok diszulfid-híddá történő oxidációjával.

Egyre több bizonyíték van arra, hogy a poszttranszkripciós szintű regulációban fontos szerepet játszanak az **enzim-együttműködések**. Kimutatták például, hogy az **ATP-szulfuriláz, az APS reduktáz és a szulfit reduktáz komplex**et képez, ami az APS gyors eltávolításával elősegíti az egyébként ineffektív ATP-szulfuriláz hatékonyabb működését (**szubsztrát „channeling”**). Egy másik érdekes példa a cisztein szintézis enzimeinek együttműködése (**6.20. ábra**). A szerin-acetiltranszferáz és OAS:tiol-liáz enzimek egy kis része komplexet képez (**cisztein-szintézis-regulációs-komplex**). Az összekapcsolódás inaktiválja az OAS:tiol-liáz katalitikus helyét, ezáltal az OAS:tiol-liáz a szerin-acetiltranszferáz reguláló alegységeként viselkedik, méghozzá úgy, hogy csak a komplex képes OAS szintézisére. A cisztein OAS-ból és szulfidból történő szintéziséhez viszont szabad OAS:tiol-liáz enzim kell. Az OAS, ami az OAS:tiol-liázon ugyanott kötődik, mint a szerin-acetiltranszferáz, megszünteti, a szulfid pedig az OAS elhasználásával elősegíti a komplexképződést. Tehát az OAS felszaporodása (szulfid hiánya) gátolja az OAS (és így a cisztein) szintézisét, a szulfid jelenléte pedig serkenti.



6.20. ábra A cisztein-szintézis-regulációs-komplex működése. A SAT-OAS:TL komplex katalizálja az OAS képződését, míg a szabad OAS:TL a szulfid beépülését cisztein képződése közben. A SAT-OAS:TL komplex szabályozott képződése befolyásolja a szulfid beépülést, mivel a szulfid felhalmozása elősegíti, az OAS felhalmozódása (nincs beépíthető szulfid) gátolja az enzimkomplex képződését és ezzel a saját szintézisét. Ac – acetát, OAS – O-acetilszerin, OAS:TL – OAS:tiol-liáz, SAT – szerin-acetiltranszferáz.

A sejt S-egyensúlyának fenntartásában fontos szerepet játszik a szulfit oxidációja is, ami állatokban, mikroorganizmusokban és növényekben is kimutatható. Növényekben egy peroxiszómában lokalizált molibdoenzim

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

(Moco-t tartalmaz), a **szulfit-oxidáz** (a nitrát-reduktáz Moco kofaktor-kötő doménjéhez hasonló szerkezetű) katalizálja. Ez az enzim biztonsági szelepként működik, ami detoxifikálja a sejtanyagok dekompozíciójakor keletkező redukált kénvegyületeket és a bejutó SO_2 oldódásakor keletkező szulfitot:

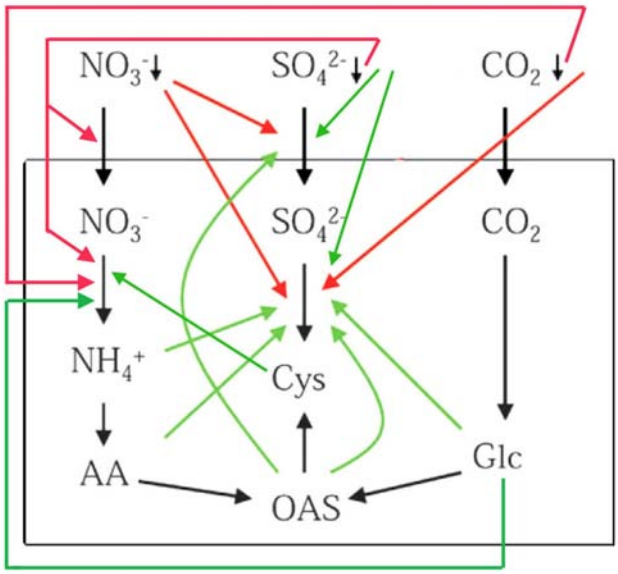
$SO_3^{2-} + H_2O+O_2 \rightarrow SO_4^{2-}+ H_2O_2$

Így a szulfit-oxidáz megvédi a sejteket a szulfitolízistől (a szulfit, mint nukleofil ágens, megnyitja a diS hidakat, ami protein inaktivációt okoz). A szulfit-oxidáz minden szövetben konstitutívan expresszálódó, állandó protein szintet mutató, poszt-transzlációs szinten regulált enzim. Általában az összeférhetetlen reakcióutak a sejtek különböző kompartmentjeiben helyezkednek el: a szulfátasszimiláció a kloroplasztiszban, a szulfitoxidáció a peroxiszómában zajlik. Ezek az organellumok szoros kapcsolatban vannak a fotorespiráció során is, ami a szulfit átjutását is biztosítja. A képződő H_2O_2 eliminálását a peroxiszómában lokalizált kataláz végzi, de a peroxid nem-enzimatikus szulfit oxidációra is felhasználódhat, a reakció eredményeként szulfát és víz keletkezik. A szulfit oxidáció végtermékeként keletkező szulfát végső soron a vakuólumba jut, illetve exportálódhat a sejtből.

6.3. A szén-, nitrogén- és kénasszimiláció összefüggései

Mint a fentiekben láthattuk, a levelekben a **fotoszintetikus elektrontranszport** és a fotoszintetikusan termelt NADPH, a gyökerekben pedig a **fotoszintetikusan termelt szénhidrátok lebontási folyamatai biztosítják a nitrogén- és kénasszimiláció energia- és reduktánsigényét**. Nagymértékű nitrogén- és kénasszimiláció ezért csak a fényperiódusban történik, a sötétperiódusban az enzimek inaktívak.

Ezen túlmenően, **a szén-, a nitrogén- és a kénasszimiláció kölcsönösen szabályozott** (**6.21. ábra**).



6.21. ábra A szén-, nitrogén- és kénasszimiláció kölcsönös regulációja (Kopriva és Rennenberg, 2004, módosítva). A szénasszimiláció termékei stimulálják a szulfátredukciót és a nitrátredukciót is. A nitrát-/szulfátredukció termékei stimulálják a szulfát-/nitrátredukciót. A szénasszimiláció csökkenése gátolja mind a szulfát-, mind a nitrátredukciót. A nitrát-/szulfátredukció csökkenése viszont gátolja a szulfát-/nitrátredukciót. A bemutatott regulációs folyamatok transzkripciós szinten hatnak.

A reguláció elsősorban a transzporterek és a kulcsenzimek transzkripciójának változása. A szénasszimiláció csökkenése redukálja mind a nitrát- mind a szulfátredukciót, a N-limitáltság pedig csökkenti a szulfátredukciót. A kénasszimiláció kulcsenzimeinek indukciója sem történik meg N-limitált körülmények közt még S-limitáltság esetén sem. A kénhiány viszont csökkenti a nitrát-transzporterek és a nitrát-reduktáz génexpresszióját, növeli viszont a szulfátfelvételt és a szulfátredukciót. A redukált S-vegyületek (Cys, GSH) felhalmozódása a nitrátredukció

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

kulcsenzimét, a nitrát-reduktázt indukálja, a redukált N-vegyületek (Glu, OAS) viszont a szulfátredukció kulcsenzime, az APS-reduktáz transzkripcióját növelik. A megfelelő szénhidrátellátottság mind a nitrogén- mind a kénasszimilációt serkenti. A fontossági sorrend tehát a szénasszimiláció>nitrogén-asszimiláció>kénasszimiláció.

6.4. Irodalomjegyzék

Fischer K., Barbier G. G., Hecht H-J., Mendel R. R., Campbell W. H., Schwarz G.	Structural basis of eukaryotic nitrate reduction: Crystal structures of the nitrate reductase active site.	Plant Cell 17, 1167–1179, 2005.
Kopriva S., Koprivova A.	Plant adenosine 5'-phosphosulphate reductase: the past, the present, and the future.	J. Exp. Bot. 55, 1775–1783, 2004.
Kopriva S., Rennenberg H.	Control of sulphate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism.	J. Exp. Bot. 55, 1831–1842, 2004.
Lowe D. J., Thorneley R. N. F.	The mechanism of Klebsiella pneumoniae nitrogenase action.	Biochem. J. 224, 877-886, 1984.
Lumpkin T. A., Plunkett D. L.	Azolla: botany, physiology, and uses as a green manure.	Econ. Bot. 34, 111-153, 1980.
Swamy U., Wang M., Tripathy J. N., Kim S-K., Hirasawa M., Knaff D. B., Allen J. P.	Structure of spinach nitrite reductase: Implications for multi-electron reactions by the iron−sulfur:siroheme cofactor.	Biochemistry 44, 16054–16063, 2005.
Takahashi H., Kopriva S., Giordano M., Saito K., Hell R.	Sulfur assimilation in photosynthetic organisms: Molecular functions and regulations of transporters and assimilatory enzymes.	Annu. Rev. Plant Biol. 62, 157-184, 2011.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

7. fejezet - A nukleinsav-anyagcsere speciális növényi vonatkozásai

szerző: Dr. Rudnóy Szabolcs

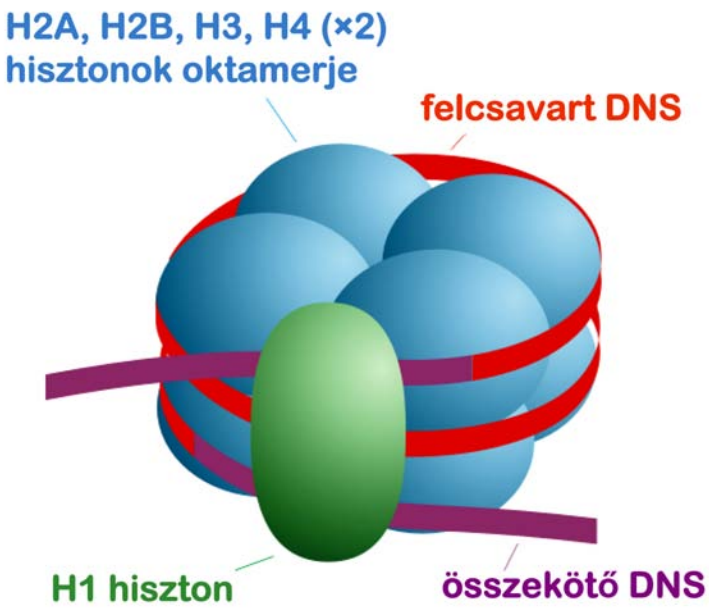
7.1. A DNS szerkezete és jelentősége

Az eukariótákban a dezoxiribonukleinsav (DNS) alapvető kémiai felépítése egységes, sőt egyes részeinek (az evolúciósan legkonzervatívabb géneknek) az elsődleges szerkezete, azaz a **szekvenciája** is nagy hasonlóságot mutat akár rendszertanilag távoli egységek között is. A DNS magasabbrendű szerveződése szintén egységes és jól elkülöníti az eukariótákat a prokarióta szervezetektől. A hisztonfehérjék köré szerveződő **nukleoszóma** szerkezet és a még nagyobb kondenzációt mutató és számos egyéb fehérje segítségével csomagolódó **kromatin** szintén közös eukarióta jelleg és a DNS meglepően kompakt szerveződését, a **kromoszómák** felépítését teszi lehetővé.

A DNS-fonal polimer óriásmolekula, amely négyféle **nukleotid** építőegység sokszoros összekapcsolódásával épül fel. A nukleotidok egy dezoxiribóz cukormolekula és annak 5’ C-atomjához kapcsolódó foszfátcsoport, ill. 1’ C-atomjához kötődő N-tartalmú szerves bázis egységéből állnak. A szerves bázis (**nukleobázis**) adenin (A), citozin (C), guanin (G) és timin (T) lehet. A nukleotid egységek a dezoxiribóz 3’ C-atomja és a szomszédos nukleotid foszfátcsoportja közt kialakuló kötéssel kapcsolódnak össze, ezért hívjuk a cukor-foszfát gerinc kapcsolódását foszfodiészter kötésnek. A bázisok, amelyek e spirális gerincből kiállnak, kötik össze a DNS egymással szembeni két komplementer láncát, hiszen az A-T, ill. C-G szemközti bázisok közt két, ill. három H-híd kötés alakul ki. A szemközti két fonal ellentétes polaritású, a dezoxiribóz szerkezetét figyelembe véve 5’→3’, ill. 3’→5’ orientáció figyelhető meg. Ez a polaritáskülönbség a replikáció, reparáció, transzkripció folyamataiban nagy jelentőséggel bír. A kettős hélix belső terét a bázispárok két egyenlőtlen részre osztják, s ez periodikusan ismétlődő **kis és nagy árkok**at hoz létre a DNS-molekula szerkezetén. A DNS-sel kapcsolatba lépő fehérjék többnyire a nagy árokhoz kapcsolódnak, mert a négyféle bázis jellegzetes térszerkezetű megkülönböztető csoportjai erre az oldalra esnek.

A nukleoszómákban 147 bázispár (bp) genomi DNS tesz 1 és 3/4 csavarulatot a két-két kópiát tartalmazó H2A-H2B-H3-H4 hiszton oktamer körül (7.1. ábra). A nukleoszóma magot egy rövid, kb. 80 bp hosszúságú DNS-szakasz köti össze a következő nukleoszómával. A hisztonok evolúciósan nagyon konzervatív fehérjék, ennek ellenére egyes hisztonoknak ismertek különböző variánsai, amelyek megjelenése pl. a DNS javításához, vagy átírásának szabályozásához köthető. A hisztonfehérjék egymással sok ponton érintkezve alakítják ki az oktamert, de főleg az N-terminális farokrészeik kilógnak a nukleoszóma belsejéből és lehetőséget adnak számos kölcsönhatásra a hisztonmódosító fehérjékkel. Ezek acetil-, egy, két, vagy három metil-, foszfát-, ill. ubiquitin-csoportot képesek kapcsolni a hisztonok adott aminosavaira, vagy éppen eltávolítják e csoportokat. Ezek a módosítások rendkívül fontosak a kromatin kondenzációjának alakításában és így a génkifejeződés szabályozásában is (ld. 7.4.4.2.).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



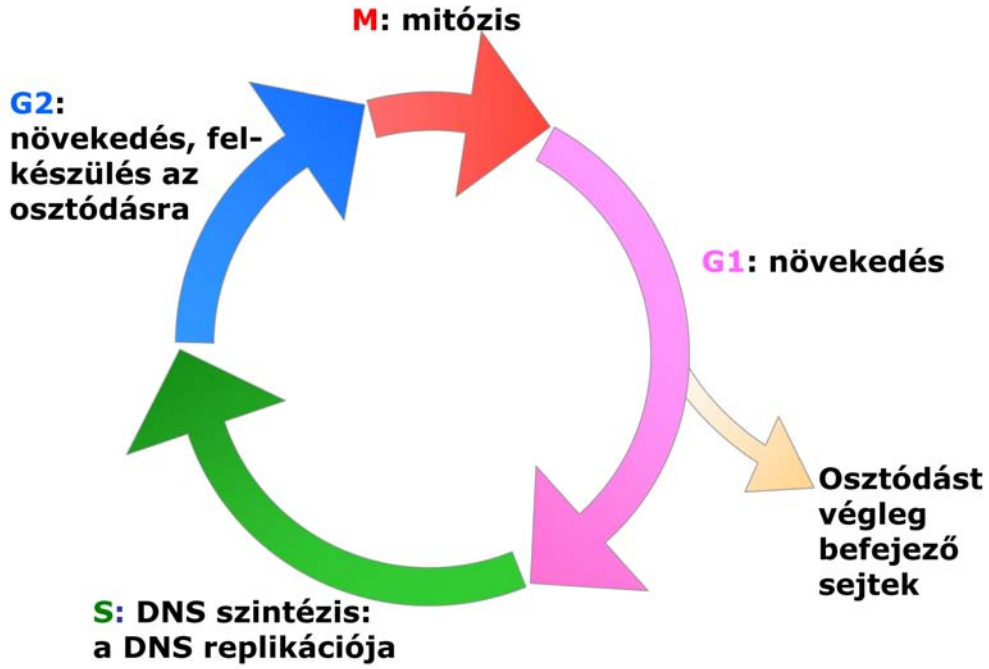
7.1. ábra A nukleoszóma felépítése

7.2. A DNS-replikáció

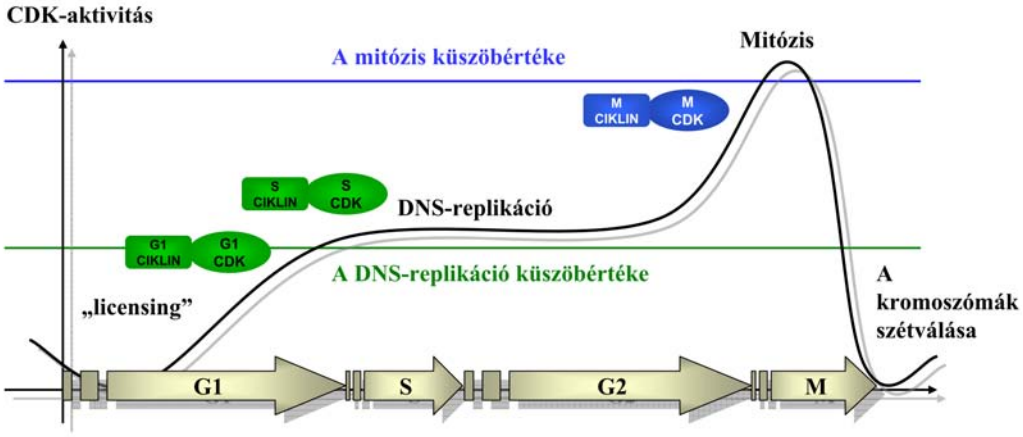
7.2.1. A DNS-replikáció általános szabályozása

A DNS megkettőződése, a **replikáció** a sejt életének, a **sejtciklus**nak az *S fázis*ában (S: szintézis) történik (7.2. ábra). A mitotikus sejtciklust a hosszú interfázisra és a rövidebb ideig tartó M fázisra (M: mitózis) osztjuk, de az interfázis szintén több részre osztható, sorrendben: G1 (G: *gap*), S és G2 fázis. A G1 fázisban a fiatal sejt növekedésnek indul, és egyúttal megtörténik a replikáció előkészítése – olyan folyamatok zajlanak, amelyek szükségesek a DNS megkettőződéséhez, de később, az S fázisban már nem mehetnek végbe. Az S fázisban megtörténik a DNS szintézise, az ezt követő G2 fázisban pedig szintén növekszik a sejtméret és felkészül a sejt az osztódásra. A sejtciklust specifikus **ciklin-CDK komplexek** irányítják (CDK: *cyclin-dependent kinase*, ciklinfüggő kináz). Ezek olyan kinázok, azaz más fehérjéket foszforiláló enzimek, amelyek egy kináz (CDK) és egy ciklin fehérje egységéből állnak. A legtöbb CDK aktivitásához szükséges egy adott ciklin egység kötése, amely megszabja a komplex háromdimenziós szerkezetét és szubsztrátspecifitását. E CDK-ciklin komplexek más faktorokat foszforilálnak, ugyanakkor maguk is szubsztrátjai egyéb enzimeknek, de működésüket tekintve a sejtciklus szabályozásának kulcsszereplői. Minden fázisnak megvannak a rá jellemző specifikus CDK-ciklin típusai, de az általános CDK-kinázaktivitás is jelentős szabályozó szereppel bír.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



7.2. ábra A sejtciklus



7.3. ábra Az általános CDK-aktivitás a sejtciklus során

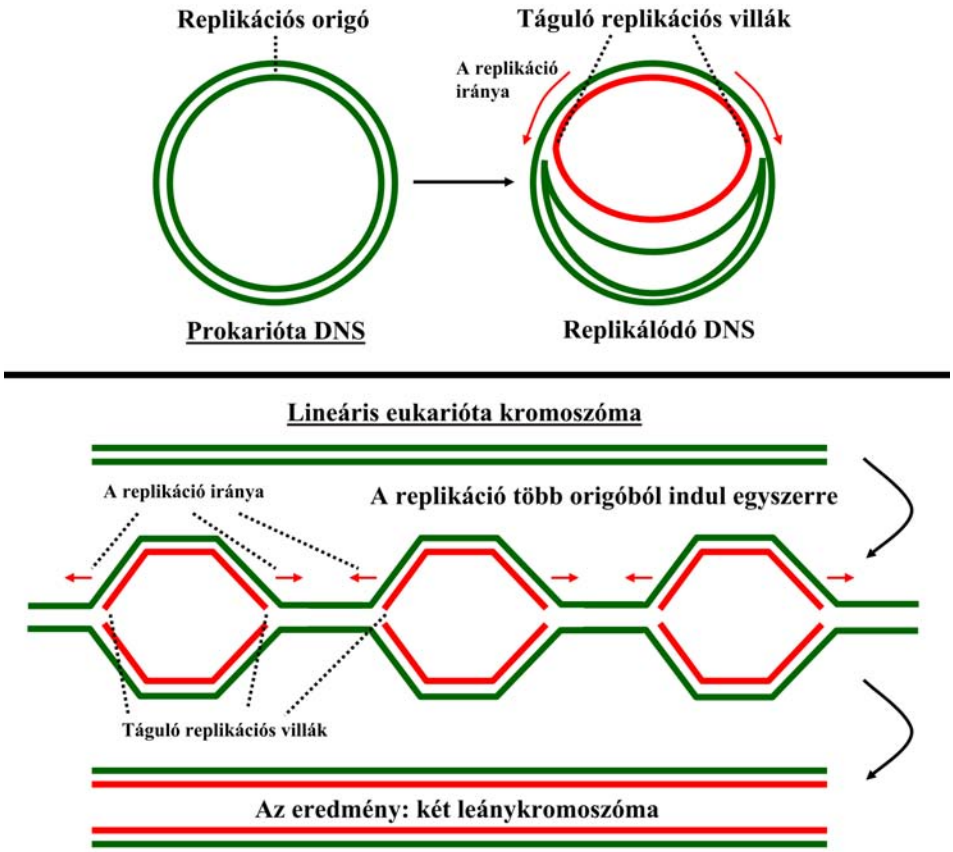
A DNS-replikáció előkészítése a G1 fázisban kezdődik. Ebben a szakaszban történik meg a **pre-replikációs komplex** (**pre-RC**) összeszerelődése (a folyamat angol neve „licensing"), ami előfeltétele a replikáció lezajlásának. A sejtciklus során a G1 fázisban legalacsonyabb az általános CDK-aktivitás (7.3. ábra), ami lehetővé teszi a pre-RC képződését, viszont megakadályozza a replikációs folyamat beindulását. Az S fázisban magasabb CDK-aktivitás mérhető, ez egyrészt szükséges a DNS-szintézishez, másrészt viszont gátolja a pre-RC újbóli felépülését, ami fontos a sejt számára az újabb replikáció elkerülése végett.

7.2.2. A replikáció mechanizmusa

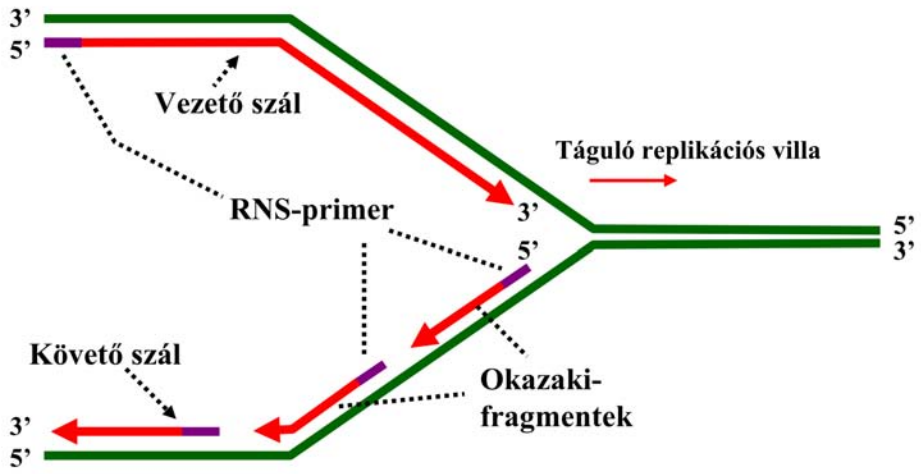
A DNS megkettőződése, vagy replikációja **szemikonzervatív** módon megy végbe, ami arra utal, hogy a DNS kettős szálának mindegyike templátként, mintaként szolgál a szintézist végző enzimek számára, vagyis a folyamat végén létrejövő molekula egyik szála az eredeti DNS-ből származik, a vele komplementer másik szálat pedig a **DNS-függő DNS-polimeráz** enzimek az új szintézis során nukleotidról nukleotidra építették föl. A replikációban nagyon sok fehérje precíz együttműködése zajlik, ilyenek az említett DNS-polimerázok, amelyek a tulajdonképpeni szintézist végzik, de szükség van *helikáz* funkciójú fehérjékre, amelyek a DNS kettős szálát csavarják szét

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

(denaturáció), *topoizomeráz* enzimekre, amelyek a szétcsavarodás következtében keletkező feszültséget csökkentik és *primáz* funkciójú enzimre is, amely a prokariótákhoz hasonlóan ribonukleotid primereket (oligonukleotidokat) képez a nagyobb hatékonyságú polimerázok munkájának megkezdéséhez. A replikációs folyamat kiindulási pontja a **replikációs origó**, amelyből a prokarióták cirkuláris DNS-én többnyire csak egy van, ellenben a prokarióta eredetű növényi sejtszervecskék DNS-ének megkettőződése általában két kezdőpont részvételével zajlik. A nagyméretű és lineáris szerkezetű eukarióta kromoszómák replikációja sok origót igényel, ezek kb. 20-80 tagú csoportokban helyezkednek el és a csoport kezdőpontjain belül nagyjából egyszerre indul meg a folyamat (7.4. ábra). Az origók aktiválása az S fázisban több szakaszban zajlik, ami jelentősen megnöveli a replikáció időtartamát. Az eukromatin replikációja hamarabb történik meg, mint a heterokromatiné és az előbbin belül is a háztartási géneket tartalmazó részek másolódnak a legelőbb.



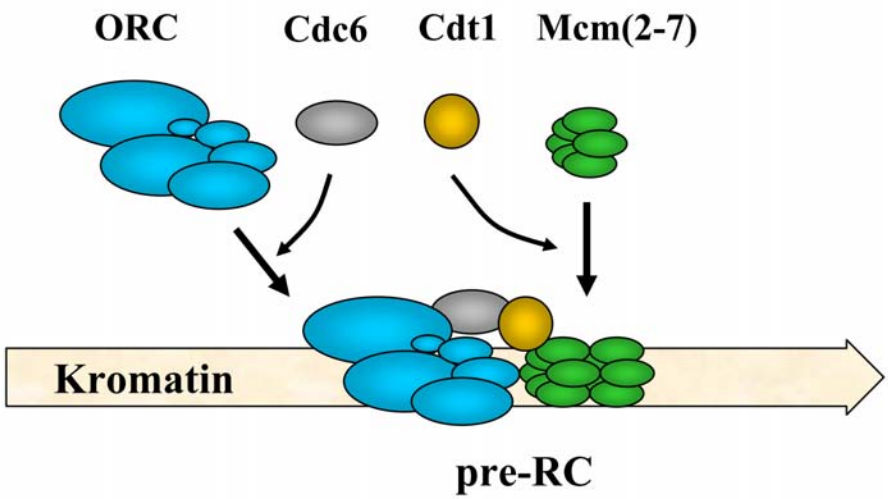
7.4. ábra A prokarióta és az eukarióta DNS-replikáció sémája



XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

7.5. ábra A vezető és a követő szál szintézise

Mivel a DNS-polimerázok 5'→3' irányú szálszintézisre képesek és a szétcsavart két szál polaritása ellentétes, a két új szál szintézise is egymással ellenkező irányban folyik. Így az egyik szál felépítése a DNS széttekerésének irányában, azaz a **replikációs villa** irányában zajlik, ez a **vezető szál**, a másiké ezzel ellentétesen (7.5. ábra). Az utóbbi esetében azonban a replikációs villa folyamatos tágulása egyre újabb egyes szálú templát DNS-részeket tár föl, ahol a szintézis új primerről indul, így e **követő szál** szintézise darabok, fragmentek (*Okazaki-fragmentek*) formájában lassabban történik. A fragmenteket a folyamat végén *ligáz* enzimek kötik össze egymással.

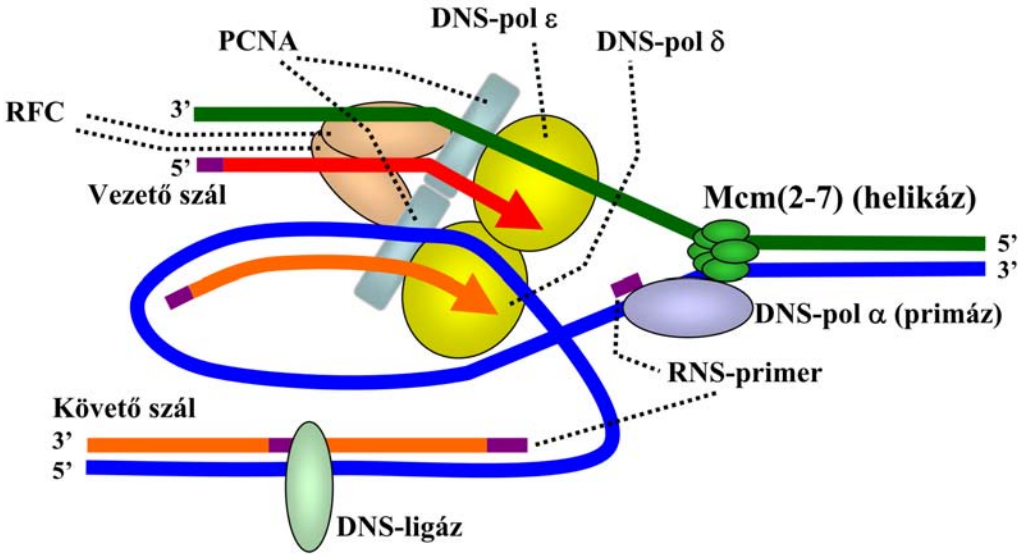


7.6. ábra A pre-RC összeszerelődése a G1 fázisban („licensing")

A replikációs folyamat egyik legbonyolultabb része az eleje, a **pre-RC összeszerelődése** (7.6. ábra). Erre még a G1 fázisban kerül sor, alacsony CDK-aktivitás mellett. A replikációs origókhoz kötnek be az **ORC komplex**ek (*Origin Recognition Complex*), amelyek a Cdc6 nevű kisebb fehérjével egyesülve ATPáz együttest alkotnak. Ehhez szintén egy bonyolult komplex csatlakozik, amely egyrészt az **MCM(2-7) komplex**ből, másrészt a Cdt1 nevű fehérjéből áll. Az immár elkészült pre-RC további aktiválását CDK-ciklin kinázok végzik el a sejtciklus S-fázisának kezdetén. Az aktivált MCM(2-7) komplexek *helikáz* aktivitásuk folytán részt vesznek a DNS lokális denaturációjában, a Cdt1 fehérjék pedig foszforilálódás után az ubiquitin-úton lebomlanak. Ez utóbbi fontos lépés a re-replikáció elkerülése céljából.

A következő lépések során kialakul a **repliszóma**, amely a szálszintézist katalizáló polimerázok mellett nagyon sok további komponenst tartalmaz és ezek együttműködésével végzi a vezető és követő szál szintézisét. A szétnyíló DNS egyes szálát védőfehérjék burkolják be és beköt a **DNS-polimeráz α** (Pol α), amely a templát szállal szemben kb. 20-30 nukleotid (nt) méretű vegyes RNS-DNS primert szintetizál (kb. 8-10 nt RNS + kb. 10-20 nt DNS). Kis hatásfokú enzim, *in vitro* is csak kb. 200 nukleotidot képes beépíteni. Ezt az iniciált szerkezetet ismeri föl a **replikációs faktor C** (**RFC**), és rácsatolja a DNS-re a gyűrű alakú és a DNS-t magába zárva, azon mindkét irányban mozogni képes **PCNA** (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*) fehérjét, amelyhez már képes kapcsolódni a nagy hatékonyságú **DNS-polimeráz δ** és **ε** (Pol δ, Pol ε) (7.7. ábra). A Pol ε a vezető, míg a Pol δ a követő szál szintézisét végzi. E két polimeráz nagy hatásfokkal hosszabbítja a megkezdett fragmentumot. A két szál szintézise, a követő szál templátján kialakuló huroknak köszönhetően, egy iker repliszóma által virtuálisan egy irányban zajlik. Amikor két szomszédos replikációs villa találkozik, véget ér a szintézis. A ribonukleotidokat endonukleáz enzimek vágják ki, a rést a nagy hatékonyságú polimerázok töltik ki DNS-sel és végül a fragmenteket ligáz enzimek kapcsolják össze.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



7.7. ábra Az eukarióta repliszóma

Minden sejtben azonos a DNS szekvenciája, de többé-kevésbé különböző a DNS-en a metilációs mintázat, azaz az epigenetikai információ. A DNS replikációja során az epigenetikai jelek, így a metilációs mintázat és a hisztonfehérjék módosulásai is pontosan másolódnak a frissen keletkező DNS-szálakra, vagy épp dinamikusan módosulnak az S fázis során. Sok replikációs fehérje egyúttal az epigenom replikációjában is részt vesz, így pl. hisztonmódosító enzimek, kromatin-átrendező fehérjék és hisztonvariánsok, de RNS-molekulák is szerepet játszanak a folyamatban.

7.2.3. Az organelláris DNS szintézise

A mitokondrium genomjának replikációját a gombákban és az állatokban a *DNS-polimeráz γ* végzi, ezért sokáig úgy gondolták, a növényekben is ez az enzim működik. Azonban az eddig megszekvenált növényi (sejtmagi és organelláris) genomokban nem találták nyomát a gamma polimeráznak, ellenben két olyan enzimet fedeztek föl, amelyek a gombákban és az állatokban hiányoznak, a növényekben viszont mindkét organellum DNS-szintéziséért felelősek. E két enzim a prokarióták *DNS-polimeráz I* enzimére hasonlít. Valószínűleg a két enzim egyike végzi elsősorban a replikációt, a másik aktivitása stressz esetén növekszik, tehát inkább javító funkciója lehet.

7.2.4. A telomer és fenntartása

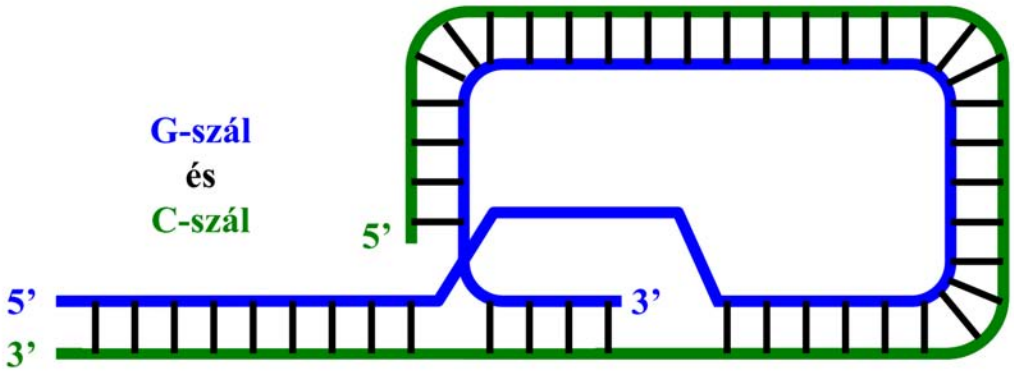
Az 1970-es években fogalmazódott meg a „vég-replikációs probléma”, amikor belátták, hogy a szabályos replikációval rendszeresen rövidülne a kromoszóma. (A követő szál templátján mindig lenne egy kis darab, amellyel szemben nem képződne új szál). Az eukarióta kromoszómák vége, a **telomer**, speciális szerepet tölt be és fenntartása, replikációja is a kromoszóma többi részétől eltérően zajlik. A telomer, mint a cipőfűző végén a sapka, védi a kromoszómát az exonukleázok hatásától, a mechanikai sérülésektől és a szomszédos kromoszómákkal való fúziótól. Amíg a géneket nem kódoló telomer rövidül, az örökítőanyag károsodása elkerülhető. A jelenség fontosságát jelzi a svéd Karolinska Intézet 2009-es döntése, amellyel az orvosi-élettani Nobel-díjat a telomer szerepével és fenntartásával összefüggő úttörő kutatásokért ítélte.

A telomer tandem ismétlődések sorozata, amely evolúciósan igen konzervatív: minden eukariótában G-gazdag (**G-szál**) és vele szembeni C-gazdag (*C-szál*) DNS-fonal (7.1. táblázat), amelyek közül a G-szál 3'-végi egyes szálú DNS-ként túlnyúlik a komplementer láncon. A túlnyúló G-szál azonban nem szabadon végződik, hanem hurokszerűen beköt a C-szállal szemben (7.8. ábra), így alakul ki a **t-hurok**nak nevezett szerkezet, amelyet először emlősöknél fedeztek föl, de ma már a növényekben is bizonyított a jelenléte. A telomer nem csak a jellegzetes DNS-részleteket tartalmazza, hanem fehérjékkel komplexált „sapka”. E fehérjék egyrészt állandóan jelen vannak a telomer szerkezetén, másrészt a telomer replikációját, fenntartását végző **telomeráz** enzim működését szabályozzák.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

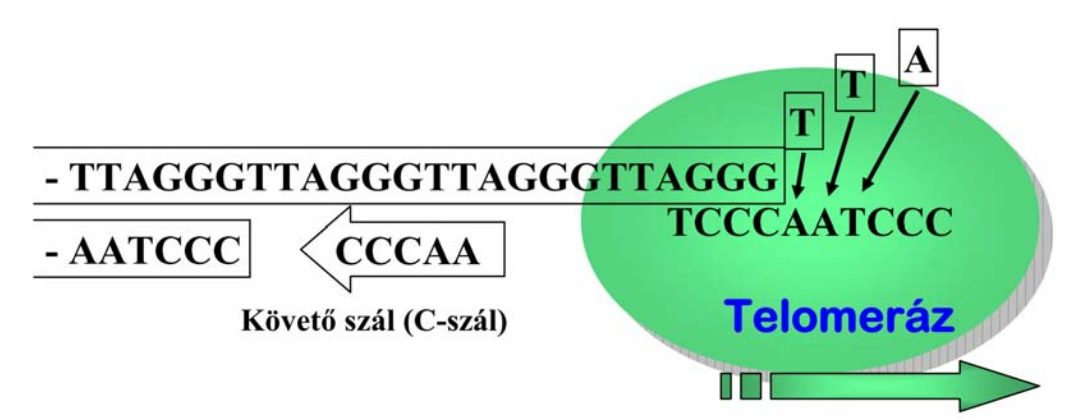
7.1. táblázat A telomer-DNS G-szálának ismétlődő szekvenciája

Taxon	ismétlődés	megjegyzés
Arabidopsis	TTTAGGG	a növényekre leginkább jellemző szekvencia
Asparagales	TTAGGG	az eukariótákra leginkább jellemző szekvencia
Asparagales	TTGGGG	az Asparagales egyes fajaira jellemző szekvencia
Saccharomyces	TG_{1-3}	



7.8. ábra Az eukarióta telomer t-hurok szerkezete

A telomeráz RNS-t és fehérjét tartalmazó komplex, azaz *ribonukleo-protein* (RNP). A benne levő RNS-t **telomeráz RNS**-nek nevezzük és szekvenciáját tekintve reverz komplementer a G-szállal. Ez a jellegzetessége természetesen funkciójával függ össze: templátként szolgál a telomeráz komplex számára a G-szál DNS-szekvenciájának létrehozására. A telomeráz ugyanis nem a rövidebb C-szálat egészíti ki, hanem az egyébként is hosszabb G-szál méretét növeli. RNS-ét templátként használva *reverz transzkriptáz* aktivitással, tehát RNS-függő DNS-szintézissel építi be az új nukleotidokat a G-szálba, megtartva természetesen a fajra jellemző tandemismétlődő szekvenciát. A C-szál hosszabbítása klasszikus követő szál rendszerben történik (7.9. ábra). Ha a G-szál mérete eléri a szükséges méretet, a telomer komplexáló fehérjéi gátló hatást fejtenek ki a telomerázra, így alakul ki a szerkezet végső mérete.



7.9. ábra A telomeráz működése

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

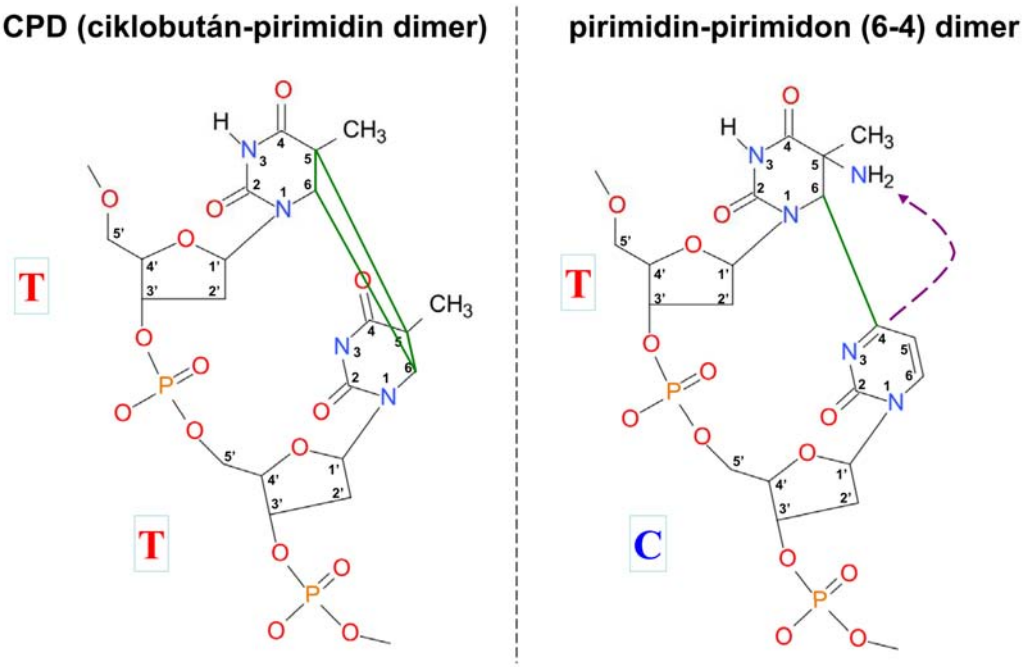
7.3. A DNS javítása, módosítása és lebontása

7.3.1. A DNS reparációja

Az élő szervezetekben a DNS az egyetlen molekula, melyet meghibásodása esetén a sejt aktívan kijavít. A DNS minden élő sejtben folyamatosan ki van téve a legkülönbözőbb típusú sérüléseknek, ugyanakkor számos különleges mechanizmus gondoskodik a javításáról. E mechanizmusok hibája komoly problémákhoz vezet, pl. öröklődő DNS-sérülésekhez, ill. rákos elváltozásokhoz. A DNS bázissorrendjét már szintézise közben ellenőrzi a DNS-polimeráz. Ennek ellenére történhet *hibás beépülés*, ill. *mutagén hatások* következtében később is előfordulnak változások a DNS szerkezetében. A meghibásodásokat a **reparáló enzimek** hivatottak kijavítani, legtöbbször a két lánc komplementaritását használva ki.

7.3.1.1. Az UV-károsodások javítása: fotoreaktiváció

A Napból származó elektromágneses sugárzás UV-tartománya (200-400 nm hullámhossz) elég nagy energiájú ahhoz, hogy kárt tegyen a biológiailag fontos makromolekulák szerkezetében, ám e tartomány különböző részei nem egyforma arányban érik el a földfelszínt. A legnagyobb energiájú UV-C (200-280 nm) sugarak jórészt elnyelődnek az atmoszféra oxigén- és ózonmolekulái által. Az *UV-A* (320-400 nm) és az *UV-B* (280-320 nm) tartomány azonban eléri a bioszférát és genotoxikus hatásokat válthat ki. Az UV-A sugarak ún. fotoszenzitizációs reakciókat idézhetnek elő, amelyek oxidatív károsodásokhoz és kisebb mértékben bázisvesztéshez, kettősszál-töréshez vezethetnek a DNS-en. Az **UV-B** fotonok hatása pedig a DNS egyik leggyakoribb meghibásodása, a **pirimidin dimerek** képződése. Ilyen esetben az azonos láncon levő szomszédos bázisok dimerizálódnak.



7.10. ábra A pirimidin dimerek

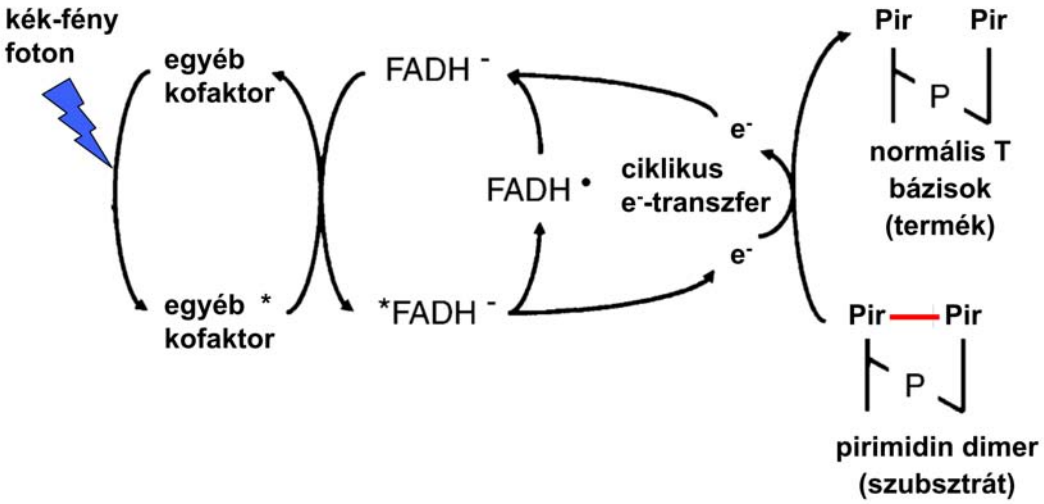
A pirimidin dimerek két legfontosabb típusa a **ciklobután pirimidin dimer** (**CPD**) és a **pirimidin-pirimidon** dimer, vagy 6-4 fototermék (**6-4 dimer**) (7.10. ábra). A CPD többnyire két szomszédos T részvételével, míg a 6-4 dimer TpT, vagy TpC pozícióknál alakul ki. A növényi szövetekben UV-B hatására sokkal gyakrabban képződik CPD, mint 6-4 dimer. Az erős UV-B sugárzás a növény növekedésére, fejlődésére, morfológiájára és anyagcseréjére nézve is nagyon káros. Mivel e DNS-hibák a replikáció és a transzkripció folyamatait is gátolják, ezért mutagén és citotoxikus hatásúak is egyúttal, így javításuk alapvető a növény túlélése szempontjából. A kétféle dimerhibát két különböző enzim javítja a növényekben, a **CPD fotoliáz** és a **6-4 fotoliáz**. A CPD fotoliáz jóval általánosabb az élővilágban, míg a 6-4 fotoliáz hiányzik a legtöbb prokariótából és eukariótából is, de pl. a *C. elegans* és az ember genomjában egyik enzim génjét sem találták meg (7.2. táblázat).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

7.2. táblázat A fotoliázok előfordulása az élőlényekben

	CPD fotoliáz	**6-4 fotoliáz**
Eubacteria		
Agrobacterium tumefaciens	+	+
Escherichia coli	+	-
Bacillus subtilis	-	-
Vibrio cholerae	+	-
Archaea		
Methanothermobacter thermoautotrophicum	+	-
Methanocaldococcus jannaschii	-	-
Eukarya		
Saccharomyces cerevisiae	+	-
Schizosaccharomyces pombe	-	-
Caenorhabditis elegans	-	-
Drosophila melanogaster	+	+
Homo sapiens	-	-
Arabidopsis thaliana	+	+
Oryza sativa	+	+

A két fotoliáz hasonlóan működik, mindkettő FAD koenzimet használ, de jellegzetességük, hogy egyéb, fénygyűjtő antennaként működő kofaktort is tartalmazhatnak. Az UV-fény által okozott károsodást szintén az UV/kék tartományba (350-450 nm) eső foton energiájának felhasználásával javítják, ezért a folyamat neve **fotoreaktiváció** (7.11. ábra). Ennek során az enzim köt a dimerhez és kifordítja azt a DNS szerkezetéből, majd az elnyelt kék-fény foton energiáját felhasználva az eleve redukált $FADH^-$ koenzim gerjesztett állapotba kerül ($^*FADH^-$). Ebből az állapotból képes egy elektron átadására a pirimidin dimer komplexnek, amelyben a hibás kovalens kötés felszakad, a két bázis visszatér a DNS-ben elfoglalt eredeti helyére, az elektron pedig visszakerül a FADH koenzimre. Így a reakcióban egy ciklikus elektrontranszfer játszódik le.



7.11. ábra A CPD fotoliáz működésének sémája

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

7.3.1.2. A módosult bázisok javítása

Bár a kanonikus bázisok (A, C, G, T) módosítása a normális működésnek is része (ld. 7.3.2.1., ill. 7.5.6.), sok behatás okozhat véletlenszerűen is ilyen változásokat, amelyek már sérülésnek számítanak, mert mutáció származhat belőlük. Leggyakrabban a reaktív oxigénformák (ROS) okoznak effajta sérüléseket, de ionizáló sugárzás, dezamináló anyagok (pl. savak), azidok és számos egyéb vegyület hatására is kialakulhatnak. A bázisok változatos kémiai eredetű sérüléseit ugyancsak a szabályos bázispároktól való eltérés jelzi a DNS-láncon folyamatosan járőröző felismerő rendszereknek. A javítás általában a következő séma szerint valósul meg:

1. A hibás bázis felismerése
2. A bázis eltávolítása a glikozidos kötés felbontásával
3. A nukleotid maradék részének eltávolítása (AP endonukleáz)
4. A hiányzó nukleotid(ok) beépítése DNS-polimeráz által
5. Ligálás: az utolsó foszfodiészter kötés kialakítása

Ezek a sérülések a DNS kettős szálának csak az egyikét érintik. A hibás bázisok/nukleotidok pótlása a komplementer szál alapján történik. A különböző reparációs mechanizmusok általában evolúciósan erősen konzervatív folyamatok. A báziskivágásos javítás (*base excision repair*, **BER**) enzimei specifikusan ismerik föl az adott bázismódosulást és a glikozidos kötés hasításával eltávolítják a hibás bázist. A növényekben sok ilyen enzim működik, példa rá a 3-metiladenin-glikoziláz és a **8-oxoguanin-glikoziláz**. Utóbbi működését emberben sikerült tisztázni: a humán 8-oxoguanin-glikoziláz 1 (hOGG1) nem specifikusan köt a DNS-hez és C-G bázispárokat keres. Találat esetén a G bázist kifordítja a kettős spirálból. A normális G csak az enzim külső „zsebébe" tud fordulni, azonban a hibás oxoguanin az enzim belső üregébe, az aktív centrumba kerül, ahol megtörténik a glikozidos kötés bontása. Bár az oxo-G csak két atomban tér el normál hasonmásától, a konformációs változások szabadenergia-különbségei lehetővé teszik a pontos és hatékony felismerést és megkülönböztetést. A bázismentesített nukleotid-maradékot vagy a liáz aktivitással is rendelkező hOGG1, vagy egy **AP endonukleáz** (apurin/apirimidin endonukleáz) hasítja ki. Az utóbbi reakció már nem igényel specifitást, hiszen a különböző módosult bázisok után visszamaradó cukor-foszfát csoport egyforma. A megmaradt magányos nukleotiddal szemben a hiányzó komplementert replikációs, vagy speciális **reparációs DNS-polimeráz** szintetizálja, a végeket ligáz enzim köti össze.

A nukleotid-kivágásos javítás (*nucleotide excision repair*, **NER**) enzimei nem igénylik a bázis módosulásának pontos felismerését, ehelyett aspecifikus módon a DNS-duplex konformációs változását érzékelik. A NER azonosítja a hibás szálat és endonukleáz aktivitásával 24-32 nt hosszúságú szakaszt vág ki belőle, amely tartalmazza a sérült részt. A rést replikációs DNS-polimeráz komplex (Pol δ/ε) tölti fel, az utolsó foszfodiészter kötést ligáz alakítja ki.

A módosult bázisok javításának speciális esete a **hibás bázispárosodás kijavítása** (*mismatch repair*). A szabálytalan bázispár is azonosítható a megváltozott térigény alapján, de nehezebb eldönteni, melyik a kettő közül a „rossz" bázis? A sejtben működő javító rendszerek ehhez az eredeti DNS-szál azonosítását végzik el közvetlenül a replikáció után. Prokariótáknál az azonosítás alapja az eredeti és a frissen szintetizált szál metilációs mintázatának különbsége, pl. *E. coli* esetében a GATC motívumban az A metilált az eredeti szálon, az új szál metilációja azonban csak később alakul ki, ezért a különbség egy ideig felismerhető. Az eukariótáknál a frissen készült szál metilálása az eredeti alapján gyorsan végbemegy, viszont az új szál megkülönböztető vonása a számos egyfonalas bemetszés, mert a replikáció egyik leglassúbb részfolyamata az RNS-primer kihasítását követő réskitöltés és ligálás. Valószínűleg ez alapján azonosítja a szülői szálat a javítórendszer. A javítókomplex a hibás bázispár (ill. az inszerció/deléció okozta hurokszerkezet) felismerése után azonosítja a frissen szintetizált szálat, majd az egyfonalas rés és a hibás rész közti szakaszt kivágja. A rés feltöltése az előbbiekhez hasonlóan megy végbe.

7.3.1.3. A DNS kettős szál törésének javítása

Ionizáló sugárzás, oxidatív hatások és véletlenszerű események következtében is megtörténhet a kettős szál törése. Ennek kijavítása részint **homológ rekombináció**s módszerrel (HR) történik, ilyenkor a résztvevő faktorok a törött részek végéről egyszálú emésztést végeznek, majd hasonló szekvenciát keresnek (többnyire a homológ kromoszómán) és rekombináció elősegítése után az ép szálat templátként használva DNS-polimerázok és ligáz segítségével állítják helyre a törést. A legtöbb eukarióta sejtben azonban a kettős szálas törések javításának nagy

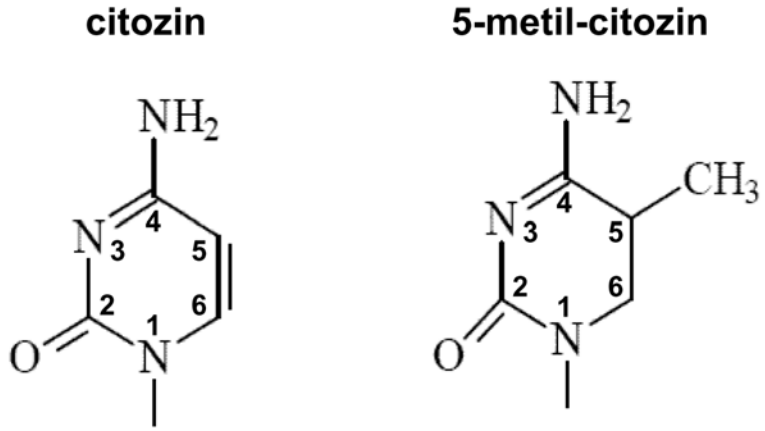
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

része a **nem-homológ végek egyesítésével** zajlik (*nonhomologous end joining*, NHEJ). Ebben a mechanizmusban olyan fehérjék is részt vesznek, amelyek egyébként a telomer fenntartásában funkcionálnak, de a katalitikus aktivitás a **DNS-ligáz IV komplex** feladata. A DNS-ligáz IV a törött kromoszómák egyesítését mikrohomológiák keresése alapján végzi, vagyis az egyenetlen törött végek komplementer bázisait igyekszik összeilleszteni.

7.3.2. A DNS metilációja és demetilációja

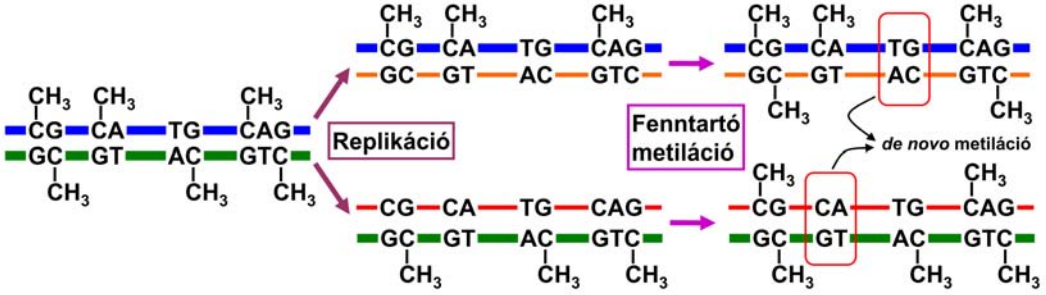
7.3.2.1. A DNS-metiláció

A sejt genetikai információját a kromatinba csomagolt DNS-szekvencia kódolja. A DNS (és a hisztonfehérjék) specifikus, *epigenetikus* módosulásai az információ egy magasabb szintjét jelentik és az érintett gének expresszióját szabályozzák. A legfontosabb ilyen szabályozó tényező a **DNS metilációja**. A metiláció többféle bázison is megvalósulhat, ismert a magasabbrendű növényekben pl. az N^6-metiladenin (6mA), de a legnagyobb számban a citozin 5. számú szénatomjának metilálása (5mC) történik (7.12. ábra). Ez evolúciósan ősi folyamat és nagy jelentőségű az eukarióták génszabályozásában (ld. 7.4.4.). A DNS-metiláció zavara az emlősökben embrionális halálhoz, a növényekben alapvető morfológiai és anyagcserehibákhoz vezet. A növényekben a citozin bázisok metilációja a szimmetrikus CG és CHG (H = A, C, vagy T) motívumokban, ill. az aszimmetrikus CHH pozíciókban történik és jellemzően az ismétlődő és transzpozábilis elemeket tartalmazó szekvenciákat érinti.



7.12. ábra A citozin és az 5-metil-citozin

A DNS metilációját a **DNS-metiltranszferáz** enzimek végzik, amelyek szerkezeti és funkcionális szinten is ugyanúgy csoportosíthatók: a különböző szerkezetű enzimek különböző DNS-pozíciókban metilálnak és különböző élettani szerepben működnek. Megkülönböztetünk **fenntartó szerepű metiláció**t, amilyen pl. a genomban jelenlévő transzpozon szekvenciák állandó metilálása és ***de novo* metiláció**t, ami dinamikusan változó metilációs mintázatot eredményez, attól függően, hogy az adott belső, vagy külső környezeti helyzetben mely gének működését gátolja a sejt (7.13. ábra). A fenntartó metilációt a szimmetrikus CG pozíciókban a DNS-metiltranszferáz 1 (**MET1**, vagy **DMT1**), a szintén szimmetrikus CHG motívumokban pedig a növényekre specifikus **CMT3** (*Chromomethylase 3*) végzi, míg az aszimmetrikus CHH szekvenciák fenntartó metilációja a **DRM2** (*Domains Rearranged Methyltransferase 2*) enzim feladata. Szintén a DRM2 katalizálja a *de novo* metilációt. Az összes enzim az S-adenozil-metionint (SAM, vagy AdoMet) használja a metilcsoport átviteléhez a citozin bázisokra.



XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

7.13. ábra A fenntartó szerepű és a *de novo* DNS-metiláció

Az *A. thaliana* genomjában a gének kb. egyharmadának kódoló része gyakorlatilag állandóan metilált állapotban van CG motívumokban. A transzpozonoktól eltérően ezek a gének transzkripcionálisan nem teljesen inaktívak, sok szövetben több-kevesebb expressziójuk mérhető. A CHG citozinok fenntartó metilációját a CMT3 enzim intézi és ez a folyamat szoros összhangban van a H3 hiszton 9-es pozíciójú lizin aminosavának dimetilációjával (H3K9me2), mert a két metilációs esemény egymást erősítő körfolyamatban zajlik. A *de novo* metiláció és az aszimmetrikus helyzetű citozinok fenntartó metilációját a DRM2 enzim kis RNS-ek és számos fehérje segítségével végzi az RNS-közvetített DNS-metilációs (*RNA directed DNA methylation*, **RdDM**, ld. 7.5.7.) útvonalon.

7.3.2.2. A DNS demetilációja

Noha a DNS-metiláció többnyire stabil epigenetikus bélyeg, számos gén, ill. kromoszóma-régió metilációs mintázata változik a növény fejlődésétől és környezetétől függően. A metilációs mintázat csökkenése **passzív és aktív demetiláció**val is végbemehet és a növényekben mindkettőre akad példa. A növényekben (az állatokkal szemben) a **BER** mechanizmusú aktív demetiláció az elsődleges: az 5mC eltávolítását specifikus **DME** (DEMETER) **DNS-glikoziláz** enzimek intézik. A bázis kivágása után egy AP endonukleáz távolítja el a nukleotid maradékát, majd reparációs DNS-polimeráz építi be a metilálatlan C nukleotidot és ligáz kapcsolja össze a lánccal. Mivel a demetiláció sokszor CG motívumokban történik, a komplementer szálon végbemenő egyidejű hasítás a kettős szál törését okozhatná, éppen ezért az egymással szemben levő CG, CNG pozíciók demetilálása nem egyszerre történik, a komplementer szálon csak akkor játszódhat le a reakció, ha a másik szálon már befejeződött.

A legtöbb DNS-glikoziláz a DNS hibáinak kijavításában dolgozik, ezért specifitásukhoz hozzátartozik a nagyon kis gyakorisággal előforduló hibás bázisok hatékony felkutatása. A DME fehérjecsalád enzimeinek feladata éppen ellenkező: a nagyon gyakori 5mC nukleotidok közül csak a kijelölteket kell eltávolítani. Így mindenképpen szükséges egy (vagy több) mechanizmus, ami irányítja e demetiláz funkciójú DNS-glikozilázokat, hogy kizárólag az arra kijelölt pozíciókban vágják ki a metilált bázisokat. Noha ez a mechanizmus még nem ismert, az eddigi elképzelések szerint a kis RNS-ek által irányított DNS-metilációhoz (RdDM, ld. 7.5.7.) hasonlóan szekvencia-specifikus kis RNS-molekulák játszhatnak szerepet ebben. Más eredmények alapján a H1 hisztonfehérjék és a kromatin állapota, szerkezete is szabályozza az aktív demetilációt.

7.3.3. A DNS lebontása

A fehérjék és RNS-ek életideje tág határok közt mozog, de többnyire jóval rövidebb a sejt életidejénél. Anyagcseréjük üteme sokoldalúan szabályozott, lebontásuk dinamikus egyensúlyban áll a szintézisükkel, az egészséges sejtben is.

A DNS életideje megegyezik a sejtével, lebontására csak akkor kerül sor, ha a sejt természetes öregedése, differenciálódása, vagy stresszhatás (pl. mechanikai sérülés, vagy patogén támadása) miatt egyébként is elpusztul. Ilyen sejtpusztulás megfigyelhető a növényekben pl. a xilém elemek, vagy egyes szilárdítószövetek kialakulásakor is. A sejt öregedése során a lebontási folyamatok előtérbe kerülnek a felépítő reakciókkal szemben. A fehérjék, RNS-ek és más anyagok bontását végző enzimek (általában véve hidrolitikus enzimek, vagy *hidrolázok*) mellett megjelennek a DNS degradációjáért felelős fehérjék, a **DNázok** is. A DNS-hasítás mechanizmusa szerint beszélhetünk endo- és exonukleázokról, előbbiek a láncközi foszfodiészter kötéseket vágják, utóbbiak a DNS-lánc valamelyik végéről hasítanak le nukleotidokat. A prokariótákból jól ismert, specifikus szekvencia mentén hasító restrikciós endonukleázok a növényekben nem ismertek; a DNS lebontását katalizáló növényi enzimek többnyire kevéssé specifikus fehérjék, amelyek akár RNS-láncot is képesek hasítani. A DNázok aktivitásának növekedése elsősorban a lebontó folyamatokhoz kapcsolódik, de a reparáció, a rekombináció és a replikáció egyes lépéseiben is szerepelhetnek.

7.4. A transzkripció

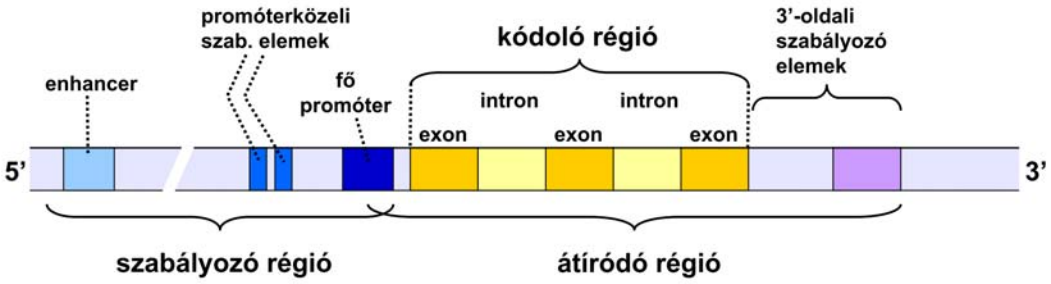
Egy gén kifejeződésének első lépése a gént kódoló DNS-szakasz átmásolása RNS-molekulává. A legtöbb esetben azután az RNS hordozta információt fehérje szintéziséhez használja föl a sejt. De a **transzkripció** termékei között a fehérjék szintéziséhez templátként funkcionáló mRNS-molekulák mellett számtalan RNS-típus megtalálható, melyek pl. a fehérjeszintézis helyszínéül szolgáló riboszómák részei (rRNS), ill. a legkülönfélébb szabályozó szerepet töltik be. Nagyon kevés kivételtől eltekintve a DNS két szálának csak az egyike, a **kódoló szál** hordoz

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

transzkripcióra, ill. transzlációra szolgáló információt. Azonban az, hogy a két szál közül éppen melyik kódol és azon milyen irányú a leolvasás, változhat egy adott kromoszóma egymáshoz közeli részei közt is. A gén átírásának, kifejeződésének időpontját és mértékét számos tényező befolyásolja, melyek megszabják, milyen fejlődési állapotban, milyen belső és külső körülmények között induljon el egy gén transzkripciója és milyen hatékonysággal, ill. mennyi ideig tartson a folyamat.

7.4.1. A növényi sejtmagban kódolt gének összetett szerkezete

A növényi sejtmag génjei hasonlítanak a többi soksejtű eukarióta hasonló szekvenciáihoz. Egy átlagos növényi fehérjegénben a kódoló szekvencia összességében ritkán haladja meg az 1300 nukleotid vagy bázis (1300 nt, vagy 1300 b; 1,3 kb) méretet, azonban ezt a kódoló szekvenciát többnyire nem kódoló részletek szabdalják szét és így 4 kb méretű vagy még hosszabb is lehet egy gén. Egy génnek egy adott kromoszómán fizikailag elfoglalt helyét **lokusz**nak nevezzük. A gén kódoló részei az **exon**, míg az őket egymástól elválasztó, nem kódoló részletei az **intron** nevet viselik (7.14. ábra). Amikor egy fehérjegén kifejeződik, a transzkripció során először egy **elsődleges transzkriptum**, egy prekurzor mRNS-molekula íródik át róla, amely az exonok és intronok átiratát is tartalmazza és csak később vágódnak ki belőle az intronnak megfelelő részek (ld. 7.5.6.). Így egy érési folyamat végén jön létre a kész **mRNS**-molekula.



7.14. ábra Egy tipikus növényi (eukarióta) gén szerkezete a fő szabályozó elemekkel

A gén 5'-végén túli nem kódoló szekvencia általában olyan DNS-motívumokat tartalmaz, amelyek a gén átíródását szabályozzák. A gén kódoló részének 3'-vége után olyan elemek helyezkedhetnek el, amelyek a keletkező mRNS módosítását szabályozzák, ill. a transzkripció stop kodonja is itt található. Sokszor nem könnyű megállapítani egy gén 5'-, ill. 3'-oldali határát. A kromoszómák jelentős részét alkothatják a gének közötti DNS-szakaszok, amelyek pl. tandem ismétlődéseket, ill. aktív vagy inaktivált transzpozábilis elemeket tartalmazhatnak és nagyban hozzájárulnak néhány növényi genom kivételesen nagy méretéhez.

7.4.2. A transzkripciót az RNS-polimerázok katalizálják

7.4.2.1. A sejtmagban működő RNS-polimerázok

A gének átírását DNS-ről RNS-re a DNS-függő **RNS-polimeráz** enzimek végzik. Az eukarióták sejtmagjában három különböző típusú DNS-függő RNS-polimeráz működik. A növényekben e három általános típuson kívül még két speciális enzim fordul elő (7.3. táblázat). A mitokondrium és a kloroplasztisz transzkripcióját ezektől eltérő enzimek végzik. Az RNS-polimeráz I, II és III minden eukariótában megtalálható, több alegységből felépülő enzim, amelyek evolúciósan egy őstől származnak. Mindháromban a két legnagyobb alegység együtt köt a DNS-hez és alakítja ki az aktív centrumot, míg további 10-15 kisebb alegység egyéb katalitikus és szabályozó funkciókat lát el. Mindegyik polimeráz a sajátosan rá jellemző promóter szekvenciákhoz kapcsolódik.

7.3. táblázat A növényi DNS-függő RNS-polimerázok

RNS-polimerázok	**Termék**	**Hely**	**α-amanitin**
RNS-pol I	26S, 18S, 5,8S rRNS-ek	sejtmagvacska	rezisztens
RNS-pol II	mRNS-ek és szabályozó RNS-ek	sejtmag plazma	szenzitív

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

RNS-pol III	tRNS-ek, 5S rRNS és szabályozó RNS-ek	sejtmag plazma	kissé szenzitív
RNS-pol IV	speciális mRNS	sejtmag plazma	rezisztens
RNS-pol V	speciális mRNS	sejtmag plazma	rezisztens

Az **RNS-polimeráz I** (Pol I) kizárólag az egy csoportba rendeződött és sok tandem ismétlődő kópiában előforduló rRNS-gének (18S, 5,8S és 25-28S rRNS) átírásáért felel. A három génről egy nagyméretű prekurzor molekula, a 45S rRNS íródik át és a további érési folyamatok során darabolódik fel a három riboszomális RNS-re, miközben a gének közti elválasztó szakaszok kivágódnak és lebomlanak (ld. 1.2.3.1.1. és 7.5.6.3.).

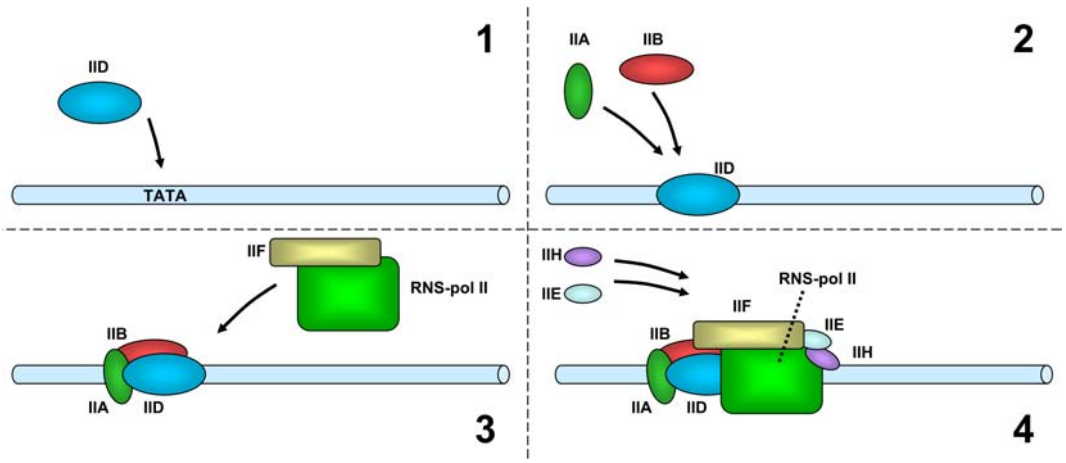
A Pol I fő promótere kb. 50 bp távolságban 5’ irányban található a transzkripciós kezdőponttól és TATATA(A/G)GGG szekvenciával jellemezhető. Ez az iniciátor szekvencia elengedhetetlen az rRNS-gének átírásához, de szintén fontos és jelentősen fokozza a folyamat hatékonyságát egy távolabbi szabályozó szekvencia. Mindkét DNS-elemhez transzkripciós faktorok kapcsolódnak, amelyek irányítják és szabályozzák a Pol I működését.

Az **RNS-polimeráz II** (Pol II) felelős a sejtmagban kódolt összes fehérjegén átírásáért. A Pol II enzimatikus működését és promótereit ismerjük a legjobban az összes eukarióta RNS-függő DNS-polimeráz közül. A promóterek szabályozzák, hogy adott gén mikor, milyen sejttípusban és milyen környezeti körülmények között nyilvánul meg.

A Pol II legismertebb szabályozó szekvenciáit (a cisz-elemeket) három nagy csoportba sorolhatjuk. A **fő promóter** mindig a gén transzkripciós kezdőpontja körül helyezkedik el, a **promóterközeli szabályozó elemek** kb. 70-200 bp távolságban, a géntől 5’ irányban találhatók, míg a **távoli szabályozó elemek** több száz, vagy akár több ezer bp távolságban is lehetnek a szabályozott géntől, génektől és 5’, ill. 3’ irányban is megtalálhatók (7.14. ábra, ld. 7.4.3.).

Sok Pol II *fő promóter* tartalmazza a **TATA-box**nak nevezett régiót, amelynek a növényekben leggyakoribb szekvenciája TATAAA és amely -26 – -31 bp távolságban (tehát 5’ irányban) helyezkedik el az átírás kezdőpontjától. Felfedezése után úgy gondolták, a TATA-box minden eukarióta gén promóterében szerepel, ma már azonban tudjuk, hogy a Pol II által átírt gének kb. harmadánál található csak meg. Az ilyen gének expressziója általában igen erős, de sokszor csak adott körülmények közt lépnek működésbe. Számos gén szabályozó régiójából hiányzik a TATA-box, így pl. sok háztartási génnél, de ez jellemző a fotoszintézisben szerepet játszó fehérjék génjeire is. Ilyenkor gyakrabban fordul elő a DPE (*downstream promoter element*) nevű szabályozó szekvencia a fő promóterben. A fő promóter a TATA-box és a DPE szekvenciák mellett többféle elemet is tartalmazhat (7.16. ábra).

A transzkripció megkezdése (az iniciáció) nagyszámú fehérjefaktor összehangolt együttműködését igényli. A fő transzkripciós faktorok szabályozott sorrendben kötnek be a fő promóter különböző részeihez és teszik lehetővé a Pol II számára az átírás megkezdését. A Pol II működéséhez okvetlenül szükséges transzkripciós faktor, a **TFIID** köt általában először a fő promóterhez. A TATA-box jelenlétében a TFIID (amely több fehérjéből álló komplex) egyik egysége, a **TATA-kötő fehérje** (TATA-binding protein, **TBP**) alakít ki nyeregszerű szerkezetet a promóter körül, majd sorrendben a TFIIB, A, F, E és H faktorok bekötésével alakul ki az a komplex, amely képes elindítani a Pol II-t a gén átírására (7.15. ábra).



7.15. ábra A fő transzkripciós faktorok bekötése a Pol II fő promóter régiójába

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A TFIIA stabilizálja a D faktor pozícióját, a TFIIB felületet nyújt a Pol II bekötéséhez, az F faktornak helikáz funkciója van, tehát részt vesz a DNS szétcsavarásában, denaturációjában. A TFIIE stabilizálja a komplexet és szabályozza a nagyon fontos szerepű H faktort, amely kináz aktivitásának megfelelően foszforilálja a Pol II legnagyobb alegységének **C-terminális doménj**ét (**CTD**) és ezzel elindítja az enzimet a gén átírására. A CTD alapvető szabályozó szerepet tölt be a Pol II működésében, nem csak az iniciáció, hanem az elongáció (a tulajdonképpeni lánchosszabbítás) és a termináció (az átírás befejezése) folyamataiban is fő szabályozó, jelközvetítő egység az enzimen. A terminációs jel sokféle lehet, de a poli(A) szignálszekvencia (pl. AATAAA) szinte mindig jelen van a Pol II által átírt gének 3' végén. Amikor az enzim ezen a jelen áthaladt, deaktiválódik, a képződött éretlen mRNS-molekula leválik róla, ez pedig előidézi a Pol II leválását is a DNS-ről.

Az **RNS-polimeráz III** (Pol III) felelős az 5S rRNS, az összes tRNS és számos szabályozó RNS szintéziséért. A Pol III tartalmazza a legtöbb alegységet, szám szerint 17-et, amelyek közül a különböző eukariótákban 5-6 egyedi, azaz hiányzik a másik két polimeráz enzimből. A Pol III transzkripciós rendszer jellemző tulajdonsága, hogy nagy szerepet kapnak az átírt régión belüli promoter elemek. Ilyen esetben a TATA-boxon kívül, amely a szokott módon kb. -30 bp pozícióban található, a gén „belsejében", azaz az átírt és kódoló szekvencián belül vannak promóter szakaszok, amelyekhez transzkripciós faktor kapcsolódhat. A terminációs jel szintén egyedülálló a Pol III rendszerben: mindössze 4-5 T ismétlődés a gének végén.

Az eukariótákban általános és eddig tárgyalt három enzimen kívül a virágos növényekben még két, csak rájuk jellemző DNS-függő RNS-polimeráz is megtalálható: az **RNS-polimeráz IV** és **V** (Pol IV és V), amelyeket csak 2005-ben sikerült felfedezni. A Pol IV enzimről eleinte azt gondolták, hogy a virágzást befolyásolja elsősorban, mert a hiánymutánsokban rendellenes virágfejlődés is előfordult. Később kiderült, hogy a **kis interferáló RNS**-ek (*small interfering RNAs*, **siRNS**, ld. 7.5.5.) szintézisében vesz részt és ezek hiányakor a virágzás is rendellenes lehet. Ezek a kis RNS-molekulák általában 21-24 nt hosszúságúak és legfontosabb funkciójuk az *RNS-csendesítés*, vagy *RNS-interferencia* folyamata, amelynek során szekvencia-homológia alapján képesek gátolni adott gének expresszióját (ld. 7.5.7.). A vírusok elleni védekezésben is részt vesznek.

A Pol V – eddigi ismereteink szerint – együttműködik a Pol IV enzimmel a siRNS-ek által is közvetített DNS-metiláció irányításában (ld. 7.5.7.). E folyamat során a genom bizonyos részein a DNS metilált állapotba kerül (elsősorban a citozin bázisokon), emiatt a gének aktivitása megszűnik és a DNS kondenzációjával kialakul a heterokromatin. A Pol IV evolúciósan a Pol II-től származik és általános a szárazföldi növényekben, a Pol V viszont csak a zárvatermőkben fordul elő és a Pol IV-ből alakult ki további evolúciós lépések során.

7.4.2.2. Az organelláris RNS-polimerázok

A növényi sejtben természetesen nem csak a sejtmagban, hanem a másik két DNS-tartalmú organellumban, a mitokondriumban és a kloroplasztiszban is zajlik transzkripció. Ezt azonban nem az eddig megismert polimerázok katalizálják, hanem azoknál egyszerűbb felépítésű és kisebb méretű enzimek. A **bakteriofág típusú RpoT enzimek** mindössze egyetlen polipeptidláncból állnak, génjük a sejtmagban kódolt és mindkét sejtszervecskében aktívak. A **prokarióta típusú PEP enzim** azonban csak a plasztiszban végez RNS-szintézist és hat alegységéből öt a plasztisz saját DNS-állományában kódolt. A kloroplasztiszban a két enzimtípus egymással összehangoltan, a fény és az egyéb környezeti faktorok szabályozó hatásától is függően együtt végzi a plasztisz génjeinek átírását.

7.4.2.3. Az RNS-függő RNS-polimerázok

A növényekben – ahogy más élőlényekben – nem csak DNS-függő RNS-polimerázok működnek, hanem olyan enzimek is, amelyek egyes szálú RNS templátról készítenek kettős szálú RNS-molekulát, vagyis **RNS-függő RNS-polimerázok** (*RNA directed RNA polymerases*, **RDR**). Az eukarióta RDR enzimek csak kevéssé hasonlítanak a vírusok RNS-függő RNS-polimerázaira és az eukarióták DNS-függő DNS-polimeráz enzimeire, ami független evolúciós történetükre utal. Általános jelenlétük az eukariótákban azt is jelzi, hogy jelen voltak azok közös ősében is. A növényekben többféle RDR enzimet különböztetnek meg (RDR1- RDR6), ezek közül általában az RDR1 fejeződik ki legnagyobb mennyiségben. A legfontosabb szerepük a növényeket támadó vírusok elleni védelemben és a DNS-metiláción keresztül történő géncsendesítésben (és így a heterokromatin alakításában) van. Mindkét folyamatban nagyon fontos a speciális egyes szálú RNS-ek másolásával készített kettős szálú RNS, amit ezek az enzimek visznek végbe. A kettős szálú RNS-molekulák az eukarióta sejt számára automatikus figyelmeztetést jelentenek és az ilyen molekulák feldarabolása után keletkező kis RNS-ek alapvető fontosságúak, hogy a sejt képes legyen elnyomni a rá nézve veszélyes, vagy szükségtelen gének transzkripcióját (ld. 7.5.7.).

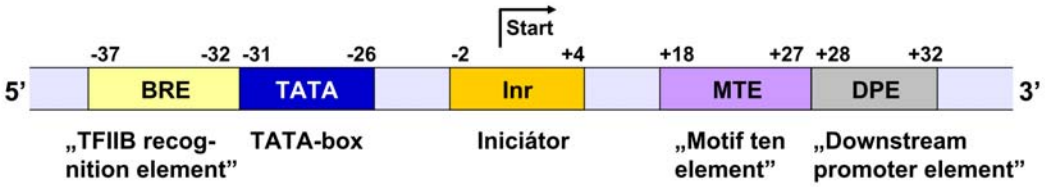
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

7.4.3. A transzkripció szabályozása: cisz-elemek és transz-faktorok

A transzkripciót alapvetően befolyásolja a gének és környezetük DNS-szekvenciája, hiszen ezek megszabják, milyen transzkripciós faktorok képesek hozzájuk kötni. A DNS azon részleteit, amelyek egy adott génnel azonos kromoszómán, ahhoz viszonylag közel és vele azonos szálon elhelyezkedve szabályozzák működését, **cisz-elemek**nek nevezzük, a hozzájuk kapcsolódó szabályozó fehérjék pedig a **transz-faktorok**. Mind a cisz-elemek, mind a transz-faktorok kifejthetnek serkentő, vagy gátló hatást egy adott génre, vagy egyes típusaik akár gének egy nagyobb csoportjára is.

7.4.3.1. Az RNS-polimeráz II fő promótere

A fő promóterről már leírtuk, hogy sok esetben tartalmazza a TATA-boxot (ld. 7.4.2.1.), de több egyéb elem is megtalálható benne, amelyek akár hiányozhatnak is. A fő promóter kb. 70 bp méretű lehet, a transzkripció kezdőpontját is tartalmazza és a kezdőponttól 5'- és 3'-irányban is kiterjed (7.16. ábra). A fő transzkripciós faktorok (ld. 7.4.2.1.) számára nyújt felismerési motívumokat és **abszolút szükséges** az átírás megkezdéséhez.



7.16. ábra A Pol II fő promóter szerkezete

7.4.3.2. A promóterközeli és a távolabbi szabályozó elemek

A promóterközeli és a távolabbi szabályozó elemek a transzkripció nagyobb léptékű szabályozására szolgálnak: serkentik, gátolják, módosítják a gének, mégpedig többnyire gének adott csoportjának átírását. A promóterközeli szabályozó elemek közül a CAAT-, a GT- és GC-boxok a legfontosabbak a növényekben. Ezek a szekvenciák az említett motívumokat tartalmazzák, többnyire több kópiában és a fő promótertől 5' irányban találhatók. A szerepük sokszor közvetve érvényesül, ilyenkor a hozzájuk kötő fehérjefaktorok a még távolabbi szabályozó elemek jeleit továbbítják a fő promóter, így végső soron a Pol II felé.

A növényi gének szabályozó régióiban sokszor szerepel olyan elem, amely külső (vagy belső) környezeti körülmények megváltozása esetén teszi lehetővé a növény gyors élettani válaszát. Ilyenek lehetnek pl. a tápanyag-ellátottság vagy a hormonkoncentráció megváltozására, ill. a különböző stresszhatások fellépésére adott válaszban szerepet játszó genetikai elemek. Ezek általában rövid, erősen konzervatív szekvenciamotívumok, amelyeket transzkripciós faktorok ismernek föl. Jó példa erre az abszcizinsav-válaszelem (*ABscisic acid Response Element*, **ABRE**), amely kb. 2000 gén promóterközeli szabályozó régiójában fordul elő az *Arabidopsis* és a rizs genomjában is. Az ilyen gének az abszcizinsav hatására indukálódnak és részt vesznek a növény adott helyzetre (pl. szárazságstresszre) való élettani válaszában.

A távoli szabályozó elemek legismertebb típusai az **enhancer**ek, az inzulátor, az LCR (*locus control region*) és az MAR (*matrix attachment region*). Az enhancerek 1 kb vagy még nagyobb távolságban is lehetnek a szabályozott géntől és a promóterek nagy részétől eltérően nem csak 5', hanem 3' irányban is, sőt akár egy gén intronjában is elhelyezkedhetnek. Méretük akár 500 bp is lehet és tíznél több transzkripciós faktor számára is nyújthatnak felismerési pontokat. Fontos különbség a gén közelében levő promóterekhez képest, hogy egy enhancer ált. több gén kifejeződését szabályozza, pl. szövetspecifikus, vagy adott fejlődési állapotra jellemző módon, vagy akár valamilyen stresszhatással összefüggésben. Az enhancer gátló hatású, génaktivitást csökkentő formáját sokszor **silencer**nek nevezzük.

Az első transzkripciós vizsgálatok kémcsőben folytak, de ma már tudjuk, hogy az *in viv*o állapot nélkülözhetetlen a génexpresszió tanulmányozásához, mert a kromatin három-dimenziós szerveződése igen fontos szerepet játszik a transzkripció szabályozásában. A magasabbrendű eukarióták kromoszómái számos ponton csatlakoznak a

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

sejtmagban található vázszerkezethez, a sejtmagmátrixhoz. A kromatin nagy, 70 kb körüli méretű, független hurkokba rendeződik, a csatlakozási pontok a **mátrixhoz csatoló régiók** (**MAR**), amelyek 200-1000 bp hosszú, AT-gazdag DNS-szekvenciák. E régiók többféle specifikus fehérje számára biztosítanak kötőhelyet és képesek a mátrixhoz kötés változtatásával szabályozni a transzkripciót: egy szabad MAR kikötése indító jelként szolgálhat egy adott gén vagy géncsoport átírásának megkezdéséhez, ill. a csatolás megszűnése a transzkripció befejezéséhez. Sok növényfajban azonosítottak ilyen szekvenciákat, pl. bab, borsó, cukornád, dohány, kukorica, ill. szója genomjában. Az MAR szekvenciák egyéb szabályozó elemekkel is együttműködhetnek, pl. a bab (*Phaseolus vulgaris*) β-fazeolin nevű génjének átíródását egy MAR és egy enhancer együtt szabályozza.

7.4.4. A génexpresszió epigenetikai szabályozása

A korábbi tudományos álláspont szerint az élőlények összes jellegzetességét a genom, vagyis a **DNS szekvenciája, elsődleges szerkezete** hordozza. Mindazonáltal évtizedek óta gyűltek a bizonyítékok olyan génexpressziós változásokra, amelyek sejtről sejtre (tehát mitózisok útján), ill. generációról generációra is (azaz meiózisokkal) öröklődnek, noha semmiféle látható változást nem okoznak a DNS elsődleges szerkezetében. A növények körében egyes virágok, ill. gabonamagvak színében bekövetkező változásokról bizonyították be először, hogy ilyen öröklődést követnek, később nyilvánvalóvá vált, ez a jelenség sokkal elterjedtebb, mint korábban gondoltuk. Ez az **epigenetikai öröklődés**, amelynek több módja is létezik, de a legismertebb a **DNS metiláció**jának közvetítő szerepe.

7.4.4.1. A DNS-metiláció szerepe az epigenetikai szabályozásban

A **DNS-metiláció** bár nem az egyetlen, de a legalaposabban feltárt mechanizmus, mely hozzájárul az epigenetikai változásokhoz. A DNS óriásmolekulájában a négy nukleobázis (A, C, G és T) sokféleképpen módosulhat, többek közt metilcsoport rákapcsolása révén is, de ezek közül messze legnagyobb számú és az epigenetika szempontjából a legfontosabb a citidin egységek metilációja. A citozin bázis 5. számú szénatomjának metilálását a **DNS-metiltranszferáz** enzimek végzik (ld. 7.3.2.1.), a növényekben elsősorban a CG, vagy CNG di-, ill. trinukleotidok citozinjain (az „N" bármely nukleotidot jelentheti a négy közül). Mivel a replikáció során a keletkező DNS egyik szála az eredeti kettős spirálból származik, hordozza az eredeti metilációs mintázatot. A frissen szintetizált új szál azonban mentes ezektől a módosításoktól, viszont a DNS-metiltranszferázok számára szubsztrátként szolgál és az enzimek a másik, régebbi szál metilációs mintázatát viszik át rá is: a metilált $C^{me}G$, $C^{me}NG$ motívumokkal szemben elhelyezkedő CG és CNG csoportokban a C bázisok szintén metiláltak lesznek (7.13. ábra). A DNS metilációs mintázata befolyásolja a hisztonfehérjék és a DNS kapcsolatát, így a DNS tömörítettségét, kondenzációját is (azaz a kromatin szerkezetét), ami természetesen visszahat a génexpresszióra, hiszen a heterokromatin kondenzált DNS-e transzkripciósan inaktív formában van.

7.4.4.2. A hisztonok és a kromatinszerkezet szerepe az epigenetikai szabályozásban

Mielőtt egy gén kifejeződhetne, az azt tartalmazó DNS-nek, a kromatin megfelelő részletének erre alkalmas állapotba kell kerülnie. Ez elsősorban a kondenzáltság csökkenését jelenti.

A kromatin szerkezetének fenntartásában játszott szerepükön túl a **H3** és **H4 hiszton**ok a transzkripció szabályozásában is fontosak. Polipeptidláncukban főként a lizin aminosavak módosulása egyrészt szabályozza a nukleoszóma szerkezetét, másrészt ezzel összefüggésben a transzkripciós faktorok kötési képességét a gén átírását szabályozó DNS-motívumokhoz. A két hisztonfehérje leggyakoribb módosulása az **acetiláció** és a **metiláció**. Az acetiláció során egy acetilcsoport kerül a két hiszton lizin részleteinek valamelyikére. Mindkét említett hisztonfehérje öt lizint tartalmaz és ezeknek akár mindegyike acetilálódhat. Az acetilcsoportot acetil-CoA szállítja, a folyamatot a **hiszton-acetiltranszferázok** (**HAT**) végzik. A metiláció szintén a H3 és H4 hisztonok lizin oldalláncait érinti, ennek során a **hiszton-metiltranszferázok** (**HMT**) csatolnak egy, két vagy három metilcsoportot a lizin láncvégi N-atomjára. Az acetiláció hatására (az acetilcsoportok nagyobb térigénye miatt) a nukleoszómák eltávolodnak egymástól és a DNS is lazábban kötődik rajtuk, így nyitott szerkezet jön létre, ahol a transzkripciós faktorok és a transzkripció egyéb kellékei jobban hozzáférnek a DNS-hez. A metiláció hatása nem ilyen egyértelmű, függ az acetilált pozícióktól és a metiláció mértékétől is: növelheti is a génexpressziót, de főleg az egyszeres metilálás a csendesítés irányában is hathat. A hisztonok módosítása és így a kromatin szerkezete mindenképpen nagyon fontos szabályozó tényező a gének kifejeződésében.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

Az epigenetikai és azon belül is a hisztonmódosítási jelek megismerése vezetett az **epigenetikai kód** és a **hisztonkód** kidolgozásához. Az elmélet szerint minden eukarióta sejtben létezik egy epigenetikai kódrendszer, amely a jól ismert genetikai kód fölött áll és attól eltérően egy adott élőlény különböző sejtjeiben eltérhet. A DNS-metilációs mintázat mellett a rendszer másik fontos része a hisztonkód lenne, ami megadja, hogy a hisztonok különféle módosítása hogyan befolyásolja a génkifejeződést (7.4. táblázat). Bizonyos lizin aminosavak metilációja bizonyítottan serkenti a génexpressziót, viszont a di- vagy trimetiláció erős gátlást okozhat. Noha jól tudjuk, hogy a hisztonok különféle módosítása (metiláció, acetiláció, ubiquitináció, foszforiláció, stb.) befolyásolja a kromatin szerkezetét, ennek mechanizmusa még nem teljesen ismert, ráadásul a módosulások és azok kombinációi a különböző élőlényekben nem feltétlenül vezetnek ugyanarra az eredményre. Mindezek miatt a hisztonkód elmélete még bizonyításra, megerősítésre vár.

7.4. táblázat A legismertebb hisztonmódosítások és hatásuk a génexpresszióra és a kromatin állapotára

Hiszton / aminosav	**A módosítás típusa**			
	monometiláció	**dimetiláció**	**trimetiláció**	**acetiláció**
H2BLys5	aktiváció		gátlás	
H3Lys4	aktiváció		aktiváció	
H3Lys9	aktiváció	gátlás	erős gátlás*	aktiváció
H3Lys14				aktiváció
H3Lys27	aktiváció	gátlás	gátlás	
H3Lys79	aktiváció	aktiváció	aktiváció/gátlás	
H4Lys20	aktiváció			
H3Ser10 / H3Ser28	mindkét aminosav foszforilációja: gátlás, kondenzáció			
H3Ser10 / H3Lys14	H3Ser10P + H3Lys14Ac: aktiváció			
*a H3Lys9Me3 a heterokromatinra nagyon jellemző hisztonállapot				
Lys5: lizin a polipeptidlánc 5. pozíciójában; Ser10: szerin a polipeptidlánc 10. pozíciójában; P: foszforilált állapot; Ac: acetilált állapot; Me3: trimetilált állapot				

7.4.4.3. A paramutáció öröklődő epigenetikai változásai

A **paramutáció** olyan epigenetikai változás, amely meiotikusan is öröklődik, tehát generációk között is fennmarad. E szóval egy heterozigóta élőlényben előforduló gén két alléljának olyan egymásra hatását jelöljük, amelynek során az egyik allél jelenléte befolyásolja a másik allél kifejeződését és öröklődő változást idéz elő az expressziójában. A változást okozó allél *paramutagén*, míg a változást elszenvedő allélt *paramutáns*, vagy *paramutált* szóval jelöljük. A jelenséget kukoricában fedezték fel, ahol észlelték, hogy a pigmentációért felelős *b1* gén két allél formájában lehet jelen: a *B-I* allél expressziója erős és fenotípusosan intenzív színt okoz, míg a *B'* allél gyengén fejeződik ki és a homozigóta egyedekben gyenge pigmentációt idéz elő. A két homozigóta keresztezésekor azonban enyhe pigmentáció jelentkezik és szexuális úton is ez öröklődik, mintha az erős színt okozó *B-I* allél elveszett volna. A változás nem érinti a DNS elsődleges szerkezetét, valójában mindkét allél DNS-szekvenciája egyforma, a kifejeződésük mégis különbözik. Mivel a változás öröklődik, a jelenség ellentmond Mendel első törvényének. A legújabb eredmények szerint az allélok, ill. azok enhancer régióinak metilációs mintázatában van különbség, ráadásul a *B'* allél jellegzetessége megváltoztatja a *B-I* allél expresszióját is, mivel az **RNS-közvetített DNS-metiláció** során keletkező kis RNS-ek közvetítik a metilációs szignált az eredetileg erős expressziójú allél felé is.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

7.4.4.4. Koszupresszió és imprinting

Az epigenetikai géncsendesítés természetesen nem jár mindig együtt öröklődő jelleggel. Az első transzgénikus növények létrehozásakor szembesültek azzal a problémával, hogy a beépített **transzgén** hatására a növényben meglévő hasonló gén elveszítette expresszióját – és a transzgén sem nyilvánult meg. A jelenség legismertebb példája a *Petunia* virágának intenzívebb színére irányuló transzformációs kísérlet, amelynek során az antocianinok bioszintézisét próbálták erősíteni a transzgénnel, de az nemhogy nem okozott erősebb pigmentszintézist, hanem erősen, vagy teljesen pigmenthiányos virágok fejlődtek. Minél több kópiában építették be a transzgént, annál erősebb lett a **koszupresszió**, azaz a két közeli rokon gén együttes gátlása. A jelenség hátterében itt is az **RNS-közvetített DNS-metiláció** áll. Mivel azonban a transzgén a meiotikus rekombináció során szeparálódhat a növény eredeti rokon génjétől, a tulajdonság nem feltétlenül öröklődik a következő generációk során.

Egy másik epigenetikai változás, az **imprinting** jól ismert az állatoknál és gombáknál is. Jó példa rá az emlősökben az apai, ill. anyai gének elhallgatása, szupressziója, ami az emberi gének kb. 1 %-ára jellemző. A növények között is találkozunk hasonlóval, pl. a kukorica endospermium színét adó *red* (*r*) gén domináns és erős színt okozó *R* allélja nagyon sötét színt kölcsönöz a kukoricaszemnek, ha az anyai vonalról származik, de jóval gyengébb pigmentációt ad, ha az apától került az utódba, holott a DNS-szekvenciában nincs különbség. Ebben az esetben a gén *R* allélja a hím egyedben metilált és ez a jellegzetessége öröklődik is, ezért ha a pollen útján kerül be az embrióba, gyengébb színt tapasztalhatunk majd a kukoricaszemben.

7.5. Az RNS-ek és anyagcseréjük a növényekben

Az élő szervezetben a ribonukleinsav (RNS) a DNS-hez és a fehérjékhez hasonlóan esszenciális makromolekula, amelynek számos típusa életfontosságú kódoló, dekódoló és változatos szabályozó szerepet tölt be a génexpresszióban és a DNS anyagcseréjében. Felépítése hasonló a DNS-hez, de a lánc gerincét alkotó pentóz a dezoxiribóz helyett itt ribóz és az A, C és G bázis mellett szereplő negyedik komponens az uracil (U). Az RNS többnyire egyes szálú molekula formájában fordul elő az eukarióta sejtben, de vannak példák kettős szálú formákra is és az egyes szálú típusokon belül is gyakori a saját láncon belüli H-híd-képzés. Általában ötféle **univerzális RNS**-típust különböztetünk meg, ezek: transzfer RNS (**tRNS**), riboszomális RNS (**rRNS**), hírvivő RNS (**mRNS**), a P-ribonukleázok RNS-komponense (**P-RNáz RNS**) és a szignálfelismerő partikulum RNS (**SRP RNS**). Az általánosan előforduló RNS-eken kívül vannak speciális, csak az élő szervezetek egy részére jellemző RNS-típusok is, amelyek közül sokról az utóbbi időben került napvilágra, hogy akár egymástól rendszertanilag távoli eukariótákban is jelen vannak és hasonló funkciót látnak el. A sejtekben az általánosan előforduló RNS-fajták mennyisége eltérő, jellemzően a következő megoszlást mutatják: 80-85 % rRNS, 6-15 % tRNS és 0,5-3 % mRNS.

7.5.1. A transzfer RNS

Ennek a viszonylag kis molekulatömegű RNS-típusnak a létezését pusztán elméleti alapon Francis Crick tételezte fel először. Nem sokkal később bizonyították, hogy az aminosavak jól oldható kis RNS-ekhez kapcsolódnak kovalensen, majd az is megállapításra került, hogy a tRNS feladata az aktivált aminosav szállítása a riboszómára. Kiderült, hogy egy adott aminosavra 4-5, de sokszor még ennél is több **izoakceptor tRNS**-molekula jut, vagyis többféle tRNS is szállíthat egyféle aminosavat.

A **tRNS-gének** megtalálhatók a sejtmag és a két organellum DNS-ében egyaránt. Egy növényi sejt kb. 110-féle tRNS-t tartalmaz, ezeknek fele az organellumokban kódolt és szintetizálódik. E tRNS-molekulák mérete 70 és 90 nt között változik és közös jellegzetességük, hogy 3’ végükön az utolsó 3 nukleotid mindig CCA. Elsőként az élesztő alanint szállító tRNS-molekulájának ($tRNS^{Ala}$) szekvenciája vált ismertté. A tRNS-ek másodlagos szerkezete is jellegzetes, felírható az ún. **lóherelevél modell**el (7.17. ábra). A modell alapján minden tRNS hajtogatódására jellemző, hogy öt fő szerkezeti egység alakul ki a molekulán:

1. Az aminosavszár, ahová a szállított aminosav kapcsolódik

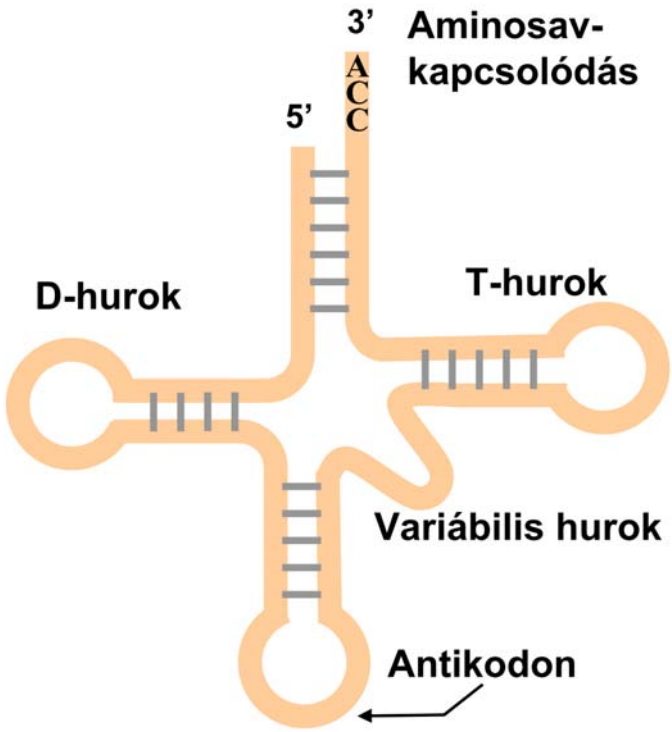
2. A D-szár és D-hurok

3. Az antikodon szár és hurok

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

4. A variábilis, vagy extra hurok

5. A univerzális tetranukleotid szár és hurok, azaz T-szár és –hurok



7.17. ábra A tRNS másodlagos szerkezetének lóherelevél modellje

Az aminosavszár hordozza az említett 3’-végi CCA motívumot, ennek a láncvégi 3’-OH-csoportjához kapcsolódik az aktivált aminosav (ld. 9. fejezet). A D-hurok a nevét a benne előforduló módosított, vagy minor bázisról (dihidrouridin) kapta. A tRNS-ek (és az rRNS-ek) közös jellegzetessége, hogy több ilyen „szabálytalan” bázist tartalmaznak, amelyek megléte erősen befolyásolhatja a tökéletes működésüket. Az **antikodon** hurok „alsó” három nukleotidja felelős az mRNS **kodon**jának felismeréséért, így mutációja rendkívül súlyos következményekkel is járhat. A variábilis hurok mérete változékony, ellentétben a T-egységgel, amely méretében állandó és nevét a benne található ribotimidin (T) módosított nukleotidról kapta, és amely egy konzervatív nukleotid-négyest (tetranukleotid) is tartalmaz.

7.5.2. A riboszomális RNS

Az élőlények fehérjeszintetizáló rendszerének szintén fontos eleme a riboszomális RNS. Az rRNS-molekulák az élő sejtben a fehérjék szintézisét végző **riboszómák** alkotóelemei, a riboszóma tömegének kb. a felét teszik ki. A másik felét a riboszomális fehérjék adják, tehát a riboszómák **ribonukleo-protein** komplexek. A riboszómák, ill. alegységeik és az őket alkotó rRNS-ek méretét hagyományosan a Svedberg-féle centrifugális ülepedési (szedimentációs, S) állandóban adják meg, amelynél a kisebb szám gyorsabb ülepedésre, tehát kisebb méretre utal. A sejtplazmában az eukariótákra jellemző **80S méretű riboszómák** találhatók, míg az organellumokban prokarióta típusú **70S riboszómák** vannak. A riboszómákban nagy és kis alegységet különítünk el, ez a nagyobb eukarióta típusúaknál 60S és 40S, míg a kisebb prokarióta riboszómában 50S és 30S méretű. Általában a kisebbik alegységben egyféle rRNS, míg a nagyobbikban két-háromféle rRNS-molekula alkot komplexet a fehérjepartnerekkel. A növényi sejtben, a tRNS-génekhez hasonlóan, mindhárom DNS-tartalmú sejtalkotó kódol **rRNS-gének**et (7.5. táblázat), amelyek szerveződése a sejtmagban nagyon jellegzetes: több száz, vagy sokszor több ezres kópiaszámban tandemismétlődő egységek formájában helyezkednek el egy vagy több kromoszómán a 18S-5,8S-26S rRNS-gének (ld. 1.2.3.1.1.).

7.5. táblázat A búza sejtmagban, kloroplasztiszban és mitokondriumban kódolt rRNS-típusai és méretük (nt: nukleotid)

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Sejtmagi		Plasztisz		Mitokondriális	
név	méret (nt)	név	méret (nt)	név	méret (nt)
5 S	120	4,5 S	95	5 S	122
5,8 S	164	5 S	121	18 S	1955
18 S	1810	16 S	1492	26 S	3467
26 S	3391	23 S	2888		

Az rRNS-ek **evolúciósan nagyon konzervatív** molekulák, pl. a 18S rRNS génjének szekvenciája a kis variabilitás miatt alkalmatlan nemzetségnél, vagy családnál alacsonyabb fokú megkülönböztetésre mind a gombák, mind a növények körében, e miatt viszont előszeretettel alkalmazzák a nagyléptékű evolúciós trendek modellezésében. Mivel az rRNS molekulák egymással és az mRNS-ekkel is kapcsolatba lépnek a riboszómán, egymással **komplementer szekvenciarészletek**et is tartalmaznak. A tRNS-ekhez hasonlóan gyakori a különféle módosítás a molekulákon, amelyek közvetlenül a transzkripció után, az érési folyamat során mennek végbe. Az egyik gyakori módosított nukleotid a **pszeudouridin**. Az rRNS-molekulán azonban nem csak a bázisok, hanem a ribóz is módosulhat, a másik gyakori módosulás a **2'-O-metilribóz**. Az ilyen módosítások elmaradása esetén (pl. etioláláskor, vagyis sötétben nevelve) működőképes riboszómák keletkeznek, de hatékonyságuk és megbízhatóságuk romlik, ami jól mutatja, hogy a módosítások a pontos működést, a finomhangolást segítik elő.

7.5.3. A hírvivő (messenger) RNS

Az mRNS minden élő szervezetben megtalálható, a DNS-ben tárolt információt képezi le és templátként szolgál a fehérjék szintézisében. Az rRNS-hez képest csak kis mennyiségben van jelen a sejtben, noha egy adott mRNS esetében ez jelenthet egyetlen, vagy akár több ezer kópiát is. Átlagos méretük érett állapotban 1500-2000 nt, de ennél sokkal rövidebb, ill. hosszabb mRNS-ek is előfordulnak.

Az érett eukarióta mRNS jellegzetes szerkezeti elemeket hordoz (7.18. ábra). A molekula mindkét végén rá jellemző speciális és részben védelmi funkciójú struktúrák találhatók, az 5' végen egy **sapka-szerkezet**, amely egy megfordított 7-metil-GTP és az utána következő O-metilált nukleotidból áll, ill. a 3' végen a jól ismert **poli(A)-farok**. Mindkettő a transzkripció közben-után, speciális enzimek közreműködésével jön létre. Az 5' oldalon a sapka után egy rövid nem kódoló rész következik és csak utána kezdődik a kódoló szekvencia. A **kódoló szakasz** első **triplet**jét **start kodon**nak hívjuk és leggyakoribb (szinte kizárólagos) szekvenciája **AUG**, de minden élőlényben előfordulnak alternatív start kodonok is, a növényekben pl. ilyen lehet az ACG triplet. A 3' vég közelében is található egy nem transzlálódó szakasz, ennek hossza nagyon változó, 20-800 nt között ingadozik. Ebben a részben helyezkedik el a poli(A)-szignálszekvencia (AAUAAA), hiánya esetén elmarad a poli(A)-farok képződése. A 3'-végi poli(A)-szakasz hossza 50-200 nt és mérete befolyásolja az mRNS életidejét: a hosszú poli(A)-szekvenciát tartalmazó molekulák stabilabbak, hosszú életűek. Léteznek mRNS-ek rövid poli(A)-farokkal, vagy farok nélkül is, ezek transzlációs aktivitása nem alacsonyabb, de az életidejük lényegesen rövidebb. Ilyenek lehetnek pl. a hisztonfehérjéket kódoló mRNS-ek.

7.18. ábra Az érett növényi mRNS szerkezete (UTR: *untranslated region*, nem transzlálódó régió)

7.5.4. Egyéb univerzális RNS-ek

A szignálfelismerő partikulum (*signal recognition particle*, SRP) feladata a szekretált fehérjék transzportja az endoplazmatikus retikulum membránján keresztül. A partikulum hat különböző fehérjén kívül egy RNS-komponenst is tartalmaz, ezt **SRP-RNS**-nek, vagy **7SL RNS**-nek nevezzük. Méretük 290-330 nt között változik és szekvenciájuk hasonlít az eukarióta genomokban gyakori *Alu SINE* ismétlődő szekvenciákhoz. Szintézisüket a Pol III katalizálja

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

(ld. 7.4.2.1.). Az SRP felismeri az éppen szintetizálódó fehérjén a szekrécióra utaló jelet és kapcsolódik a riboszómához, egyúttal a membránon levő receptorhoz és végül segíti a megszülető polipeptidláncot a membrán túloldalára jutni. Az RNS segítő, aktiváló funkciót lát el e komplexben.

A **katalitikus RNS**, vagy **ribozim** szintén minden élőlényben megtalálható, enzimatikus funkciójú RNS-féleség és felfedezése segítette az **RNS-világ hipotézis** megszületését, amely szerint a DNS (kód) és a fehérje (enzim) funkciójának kialakulása előtt az RNS önmaga másolását katalizáló rendszer lehetett (egyfajta tyúk-tojás probléma megoldás). Ma már számos enzimatikus RNS-t ismerünk, részt vesznek pl. a riboszómában az aminosavak rögzítésében és sok RNS-módosító reakcióban, mint pl. egyes RNS-ek érése, vagy a tRNS bioszintézise.

7.5.5. Speciális funkciójú kis RNS-ek

A **kis sejtmagi RNS**-ek (*small nuclear RNAs*, **snRNS**-ek) sokszor uridinben gazdag molekulák, emiatt az ilyen típusaikat U-RNS-nek is nevezik. Nevüknek megfelelően a sejtmagban találhatók meg és az mRNS-ek és tRNS-ek érését katalizálják (ld. 7.5.6.), ill. irányítják és biztosítják transzportjukat a citoplazmába (ld. 7.5.8.). Méretük 70-220 nt között változik és jellegzetességük, hogy 5’ végükön az érett mRNS-hez hasonlóan 7mG-sapka szerkezetet hordoznak. Alcsoportjuknak tekintetők a snoRNS-ek (ld. alább) és a sejtmagi Cajal-test RNS-ei.

Az utóbbi két évtizedben számtalan különböző funkciójú és változatos elnevezésű RNS-fajtát fedeztek föl. Az új generációs szekvenálási technikák megjelenése lehetővé tette a genomok még alaposabb vizsgálatát és a szövetek aktuális RNS-tartalmának egészen precíz felmérését. Talán a legérdekesebb ilyen kis RNS-típusok a kis sejtmagvacska RNS-ek (*small nucleolar RNAs*, **snoRNS-ek**), a mikroRNS-ek (**miRNS**-ek) és a kis/rövid interferáló RNS-ek (*small/short interfering RNAs*, **siRNS**-ek).

A snoRNS-ek nem kódolnak fehérjét (ahogy a többi **szabályozó RNS** sem), funkciójuk a riboszomális RNS-ek érésének segítésében van (ld. 7.5.6.3.). Kb. 90-150 nt méretű kis RNS-ek, melyek génjei egészen sajátosan helyezkedhetnek el a növényi genomban: magányosan, csoportosan, ill. más gének nem kódoló részében (intronjában) magányosan és csoportosan is. A legkülönlegesebb típusaik egy olyan gén intronjában találhatók, amelynek exon régiói valójában nem kódolnak semmit, míg nem kódoló intronjai snoRNS-ek génjeit hordozzák. A legtöbb növényi snoRNS azonban policisztronos csoportokban található a genomban, vagyis egy RNS íródik át róluk, amely a transzkripció után darabolódik föl és ebből lesznek a funkcionáló snoRNS-ek. A növények az egyéb eukariótákhoz képest több snoRNS-gént tartalmaznak, részben a növényi evolúcióban rendszeresen megjelenő poliploidia és kromoszóma-átrendeződés (ld. 1.2.2.2.1.) miatt.

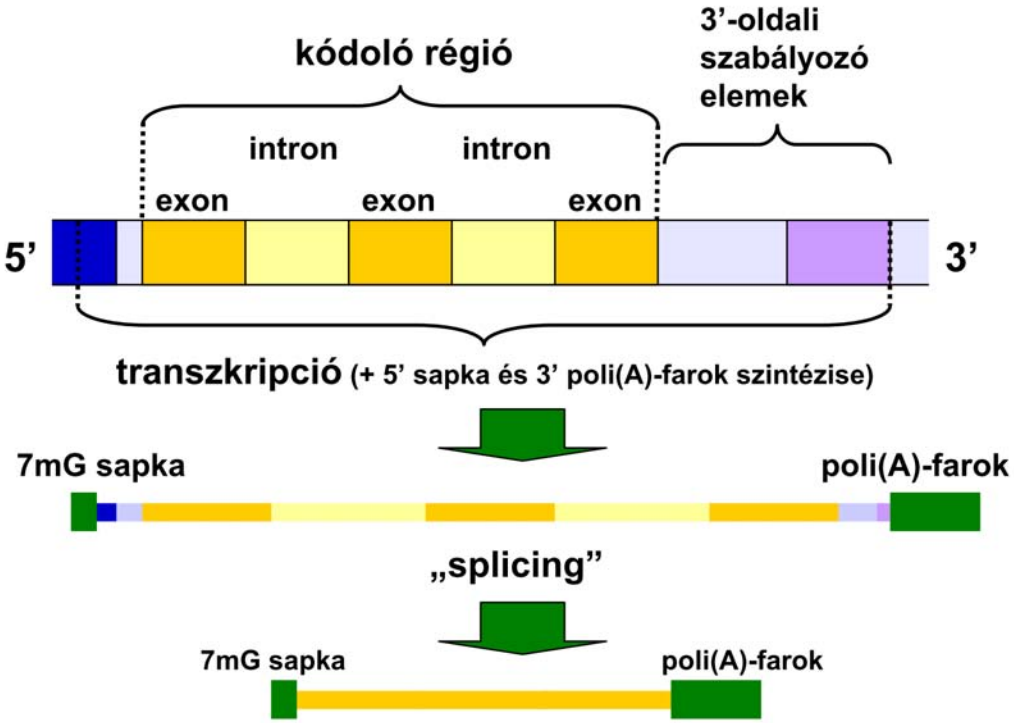
A miRNS-ek és siRNS-ek egymáshoz nagyon hasonló szerkezetű és funkciójú, **egyes vagy kettős szálú kis szabályozó RNS-ek**, 18-30 nt mérettel. Mindkét típus feladata szekvencia-hasonlóság alapján kötődni bizonyos mRNS-molekulákhoz és csökkenteni azok megnyilvánulását (7.22. ábra). Ez az **RNS-interferencia** folyamata, amelynek a növényekben több módja is lehetséges (ld. 7.5.7.). A miRNS-ek **speciális gének**ről íródnak át, amelyek függetlenek azoktól a génektől, amelyekre végül az adott miRNS gátlást fog kifejteni. Érésük nagyrészt a sejtmagban játszódik le, ellentétben pl. az állati sejtekkel. Átírásukat a Pol II végzi. A siRNS-ek egészen más úton keletkeznek: nem rendelkeznek saját génnel, hanem a sejtben már megjelent és valamilyen okból elnyomásra ítélt mRNS-ekből képződnek. Az ilyen mRNS származhat a növény saját genetikai állományából (pl. egy transzpozonból vagy egy transzgénről), vagy egy vírustól, amely megfertőzte a növényt. Az ilyen RNS-molekulákat a növényi sejt felismeri és **RNS-függő RNS-polimeráz** (*RNA-directed/RNA-dependent RNA polymerase*, **RDR**) enzimmel kettős szálú RNS-t képez belőle. A kettős szálú molekula hasításával keletkeznek a siRNS-molekulák (ld. 7.5.7.). A mechanizmus részleteit az RNS-interferencia fejezetben ismertetjük.

Speciális RNS-nek nevezhetjük a **telomer RNS**-t is (ld. 7.2.4.), hiszen csak az eukarióták sejtmagjában fordul elő.

7.5.6. Az RNS-ek érési folyamatai

Gyakorlatilag bármelyik univerzális RNS-ről legyen is szó, szinte mindig jellemző a transzkripció utáni érési folyamat, de természetesen sok speciális kis RNS-molekula is átmehet ilyen változásokon. Ezek közül leggyakoribb a nem kódoló részek (intron) kivágódása és ezzel együtt az exonok összefűzése, ill. előfordul az RNS kémiai módosítása (ld. 7.5.1. és 7.5.2.), vagy egyes nukleotidok szabályozott cseréje („editing”).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



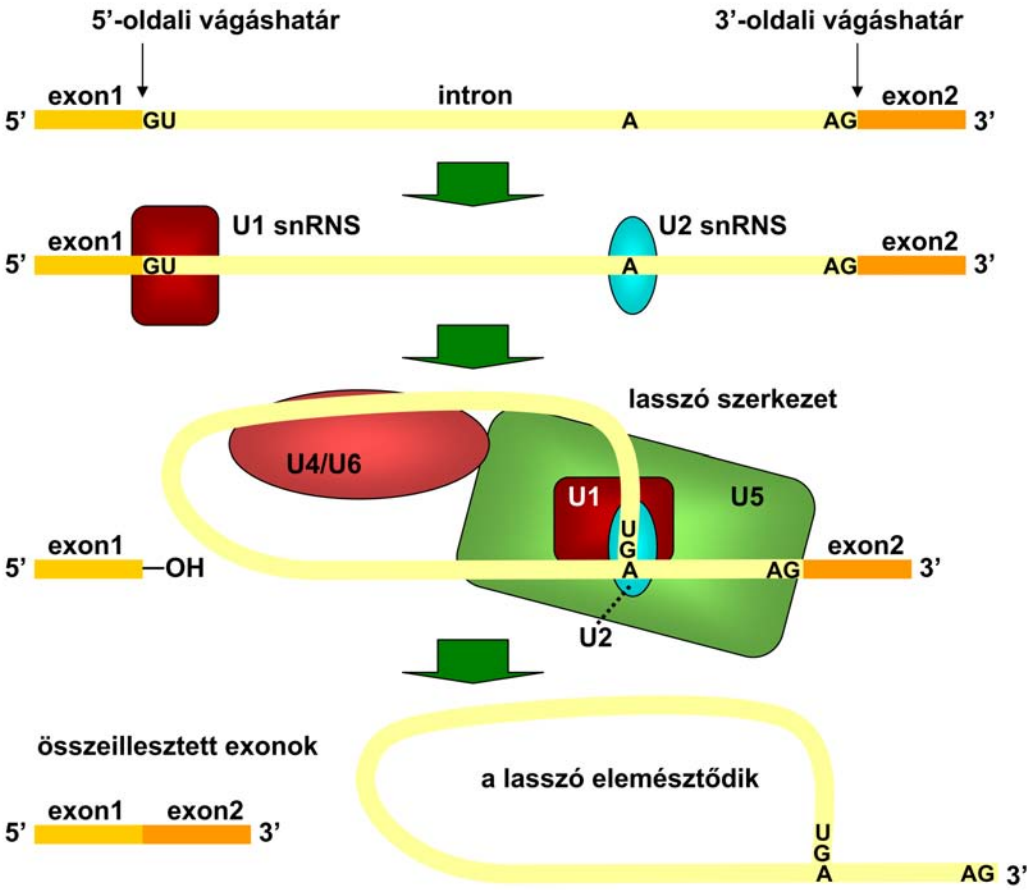
7.19. ábra Az mRNS érése („splicing"): a pre-mRNS és az érett mRNS kialakulása

7.5.6.1. Az mRNS érése

Az intron típusa egyúttal meghatározza kivágódásának mechanizmusát is. A sejtmagban kódolt mRNS-ek érésének neve „**splicing**" („to splice": összeköt). A folyamat a „**spliceosome**" nevű ribonukleo-protein komplexen megy végbe, melyben fehérjék és snRNS-ek találhatók. A splicing során a résztvevő fehérjék, szabályozó snRNS-ek és maga az intron katalitikus funkciói együtt érvényesülnek. A sejtmagi fehérjegénekről az átírás során először egy éretlen molekula, a **pre-mRNS** képződik, amely még tartalmazza az intron szekvenciákat (7.19. ábra). Ezek az intronok 70-8000 nt közötti méretűek is lehetnek, de leggyakrabban 80-140 nt hosszúak és többnyire A és U bázisban gazdagok. A spliceosome felületén megtörténik az első reakció az intron kivágódására: az intron egy belső A nukleotidja nukleofil támadást indít az 5' oldali GU vágáshatár felé, emiatt a foszfodiészter kötés felszakad és egy G-A 2'-5' foszfodiészter kötés alakul ki (**lasszó szerkezet**), miközben az 5'-oldali exon szabaddá válik (7.20. ábra). Ennek az exonnak a szabaddá vált 3'-végi OH-csoportja újabb nukleofil támadást indít a 3'-oldali határ foszfodiészter kötése felé, aminek hatására a kötés áthelyeződik a két exon közé, szabaddá téve a lasszó szerkezetű intront. Az exonok összeillesztése után a szabaddá vált intron elemésztődik és létrejön az érett mRNS (7.18. ábra).

Az organelláris mRNS-ek érésében szintén lezajlik az intronok kivágódása, de spliceosome nélkül, pusztán az intronok ribozim funkcióját igénylő önkivágás révén (**autokatalízis**). Az ilyen intronokat I. és II. típusú intronoknak nevezzük.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



7.20. ábra A sejtmagban kódolt mRNS-ek splicing folyamata

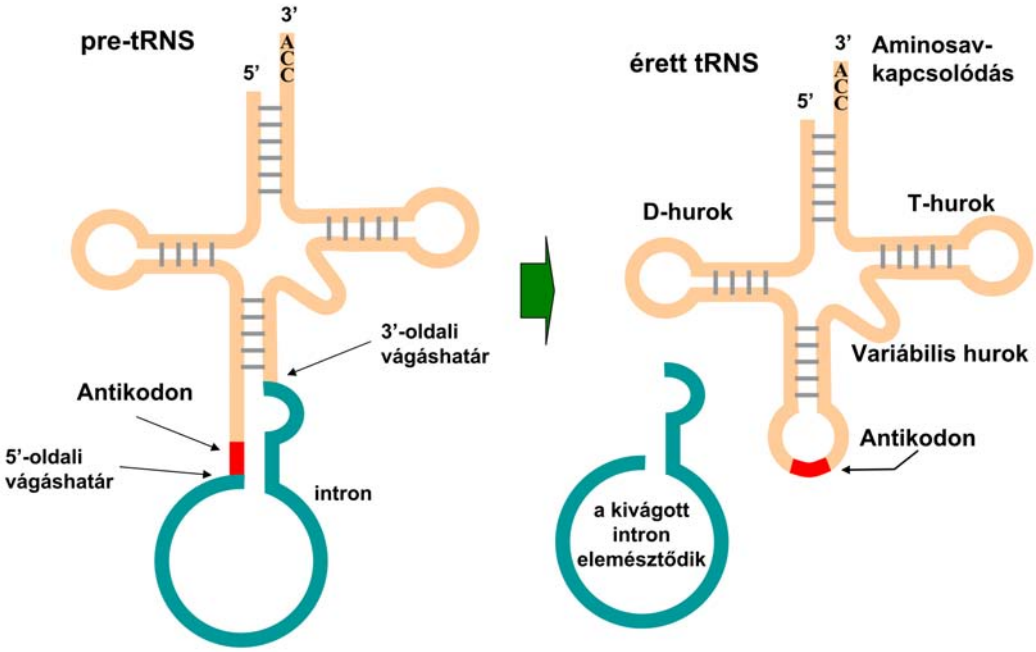
Az **alternatív splicing** (AS) során ugyanazon elsődleges transzkriptumok (pre-mRNS-ek) eltérő érési folyamaton mehetnek keresztül a vágóhelyek differenciális használata révén. Több eset is lehetséges, pl. exonok maradnak ki az érett molekulából, exonok részei eliminálódnak, ill. intron szekvenciák maradnak az érett mRNS-ben. A jelenséget korábban ritkának gondolták, de a genomi korszak fölfedte valódi jelentőségét. Különböző stresszhatásokra nagymértékben megnő az AS különböző géntermékeknél, így pl. a spliceosome egyes fehérjéinél, amelyek azután maguk is részt vesznek egyéb gének AS-jában. A jelenség magyarázata, hogy a genom kódolási potenciálja így egyszerűen növelhető, ill. az adott élőlény rugalmasabban képes válaszolni a környezeti tényezők változásaira.

7.5.6.2. A tRNS érése

A sejtmagban kódolt tRNS-ek érése kivételes abból a szempontból, hogy a részvevő **endonukleáz** nem meghatározott szekvenciát, hanem **speciális szerkezet**et ismer föl (7.21. ábra). Ezek az intronok általában 11-60 nt méretűek és kivágódásuk után még jó néhány enzimatikus lépés történik, mire kialakul a tRNS végső formája. A szekvencia is változhat: a legtöbb növényi tRNS-gén nem kódolja a **3'-végi CCA** szekvenciát, amely minden érett tRNS-re jellemző (ld. 7.5.1.), ezt szintén enzim szintetizálja érés közben a molekulára.

A plasztiszban a riboszomális és transzfer RNS-ek génjei közül több is egymással keveredve egy csoportban helyezkedik el és egy elsődleges transzkriptum íródik át róluk. Így természetesen az érésük is egy folyamatban zajlik.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



7.21. ábra A tRNS érése

7.5.6.3. Az rRNS érése

A növényi sejtmag magvacska régiójában található a **18S-5,8S-26S rRNS**-gének csoportja, míg az 5S rRNS génje többnyire ezektől szeparáltan helyezkedik el (ld. 1.2.3.1.1.). Az rRNS-ek érése és módosulása (ld. 7.5.2.) egyszerre történik, ribonukleo-protein komplexekbe szerveződött snoRNS-ek (ld. 7.5.5.) segítségével (**snoRNP**). Ezt az összetett folyamatot „processing”-nek is szokták nevezni. Az elsődleges transzkript (**pre-rRNS**) kb. **45S** méretű és tartalmazza mindhárom rRNS-t, valamint nem kódoló szekvenciarészeket is. Először a prekurzor 5’ végén, az ETS1 (*external transcribed spacer*) elemben történik hasítás, majd a 18S és 5,8S rRNS között levő ITS1 (*internal transcribed spacer*) szakasz vágásával két részre válik a kiindulási transzkript. Végül a nagy alegység RNS-e és az 5,8S rRNS között a homológ szakaszon hidrogénhíd-kötések képződnek (ami meg is marad), a nem kódoló szakaszok pedig teljesen degradálódnak.

Mindeközben folyamatosan zajlik az rRNS módosítása is: a snoRNS-ek szekvencia-homológia alapján hibridizálódnak az rRNS-lánc egyes részleteivel és ezzel módosításra jelölik ki a benne levő nukleotidok némelyikét. A fehérjepartnerek elvégzik a kijelölt nukleotidok **2’-O-ribóz-metiláció**ját, ill. uridin-átalakítását **pszeudouridin** nukleotiddá. Természetesen ezeken kívül is még sok és sokféle módosítás történik, mire kialakulnak az érett rRNS változatos minor bázisai.

7.5.6.4. Az RNS-editing

Az **RNS-editing** egy RNS-féleség nukleotid szekvenciájának programozott megváltoztatása a DNS-ben kódolt szekvenciához képest. A jelenséget először *Trypanosoma*ban fedezték fel, de hamar ismertté vált az eukarióták minden nagyobb csoportjában. A növényekben elsősorban az organellumokban jelentős. Két típusa közül az **inszerció/deléció** a növényekben ritkábban fordul elő, ilyenkor adott nukleotid beépül az RNS-láncba (inszerció), ami így hosszabb lesz, viszont a **nukleotid-kicserélődés** (konverzió) a növényekben is gyakori (7.6. táblázat).

7.6. táblázat Az RNS-editing leggyakoribb típusai különböző eukariótákban

Típus	**Szervezet**	**Organellum**	**Transzkript**	**Módosítás**
Inszerció/deléció	*Trypanosoma*	mitokondrium	mRNS	U ins / U del
(ins/del)	*Physarum*	mitokondrium	mRNS	C ins

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Konverzió	növények	mitokondrium	mRNS	C→U, U→C
			tRNS	C→U, A→I
			rRNS	C→U
		plasztisz	mRNS	C→U, U→C
			tRNS	C→U, A→I
		sejtmag	tRNS	A→I
	állatok	mitokondrium	tRNS	többféle
	emlősök	sejtmag	mRNS	C→U
(I: inozin)				

Az RNS-editing a növények **mitokondrium**ában és **plasztisz**ában többnyire **C→U** átalakulással történik és sok organelláris mRNS-t érint. Az ellenkező irányú U→C editing is előfordul, de sokkal ritkább. A plasztiszban fajtól függően kb. 20-40, míg a növényi mitokondriumban 400-1000 citidin alakul át dezaminálással uridinné. Az összes editing esemény kb. 90%-a az adott mRNS kódoló szakaszát érinti és a legtöbb esetben szükséges a konzervatív kodonszekvencia helyreállásához. A mitokondriumban több olyan gén is van, amelynek terméke csak editing után lesz teljesen funkcióképes és akkor mutat nagyobb evolúciós konzervativitást is. A biokémiai mechanizmust tekintve legvalószínűbb az RNS-specifikus C-deaminázok szerepe. A jelenség gyakorisága ellenére a szabályozó körülmények alig ismertek, de az már napvilágra került, hogy rövid, ún. guide RNS-ek jelölik ki a módosítandó pontokat és az editoszóma fehérjéi katalizálják a reakciókat. Az editing funkciós előnye lehet pl. két vagy több géntermék képzése egy génről, ami növelheti a genom kódolási kapacitását és reakciókészségét. Mindazonáltal az editing evolúciós szerepe és adaptív előnyei máig sem teljesen tisztázottak.

7.5.7. Az RNS-interferencia

Az **RNS-interferencia**, vagy **RNS-csendesítés** az összes eukarióta csoportra jellemző **génszabályozási mechanizmus**, melynek számos biológiai folyamatra jelentős hatása van. **Kettős szálú RNS**-képzésen alapul és **szekvencia-specifikus csendesítés**t, expressziógátlást tesz lehetővé mindazon génekre, amelyek szekvenciája azonos, vagy nagyon hasonló az adott duplaszálú RNS-hez. A növényekben az RNS-interferencia az RNS és a DNS szintjén is hat. **RNS-szinten** a kijelölt mRNS hasítása, ill. transzlációs gátlása (ld. 9. fejezet) történik, míg **DNS-szinten** a DNS és azzal összefüggésben a hisztonok metilálása zajlik le (ld. 7.3.2.1. és 7.4.4.2.), ami a génexpresszió gátlását vonja maga után, ill. nagyobb léptékben az adott DNS-régióban a transzkripciósan inaktív *heterokromatin* kialakulását és fenntartását.

Mindezen reakciók középpontjában azok a többnyire **21-24 nt hosszúságú kis RNS-molekulák** állnak, amelyek az említett kettős szálú RNS-ek darabolódásával keletkeznek. A darabolást erre specializált *Dicer* vagy *Dicer-like* (**DCL**) endoribonukleáz enzimek végzik, ezekből *Arabidopsis*ban négyet ismerünk (DCL1-4), mindet a rá jellemző funkcióval (7.7. táblázat).

7.7. táblázat A növényi RNS-csendesítésben résztvevő kis RNS-ek, azok mérete és együttműködő fehérjepartnereik (nt: nukleotid)

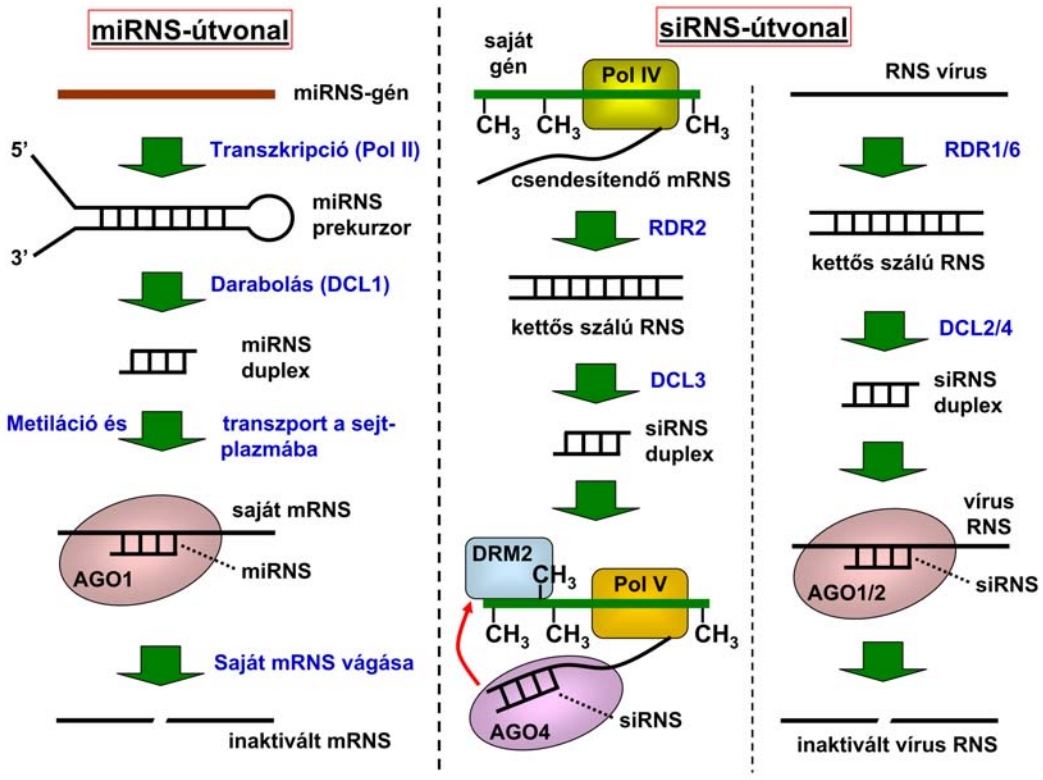
Dicer-like fehérje	**kis RNS**	**RNS-méret (nt)**	**AGO fehérje**	**Funkció**
DCL1	miRNS	21	AGO1/7/10	**1**
DCL2	siRNS	22	AGO2	**2**
DCL3	siRNS	24	AGO4/6/9	**3**
DCL4	siRNS / ta-siRNS	21	AGO1	**4**
1: saját gén csendesítése (*endogenous gene silencing*, **EGS**)				
2: transzgén és vírus poszt-transzkripcionális géncsendesítése (**PTGS**)				

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

3: transzpozonok és ismétlődő szekvenciák transzkripcionális csendesítése (**TGS**)
4: PTGS / EGS

A feldarabolt duplaszálú RNS egyik szála egy Argonaute (**AGO**) fehérjét tartalmazó komplexbe épül be, melyet RNS-indukált csendesítő komplexnek nevezünk (*RNA-induced silencing complex*, **RISC**). Ez a RISC komplex irányítja azután a kijelölt RNS, ill. DNS szekvencia-specifikus csendesítését, vagyis génexpressziós gátlását (7.22. ábra). A legtöbb miRNS és a DCL4 által előállított 21-nt siRNS-ek AGO1 fehérjékhez kapcsolódnak és a növényi sejt saját mRNS-einek kifejeződését gátolják poszt-transzkripcionális géncsendesítés (*Post-transcriptional gene silencing*, **PTGS**) útján. Ezek a gátolt mRNS-ek jellemzően a növényi fejlődést irányító transzkripciós faktorokat, ill. különféle metabolikus és hormonális útvonalakon ható enzimeket kódolnak. A DCL3-generált 24-nt siRNS-ek jórészt DNS-szinten hatnak, a citozin bázisok 5'-metilációját serkentik és az ezt követő hisztonmódosítást (főként metiláció) idézik elő, ami hozzájárul a DNS erősebb csomagolódásához, vagyis a heterokromatin kialakulásához. A folyamat neve **RNS-függő DNS-metiláció** (*RNA-directed DNA methylation*, **RdDM**, ld. 7.3.2.1.).

Az RNS-ek anyagcseréjében egyedülálló módon **egyes miRNS-ek és siRNS-ek transzportálódnak a sejtből**, pl. a szomszédos sejtbe a plazmodezmákon keresztül, ill. a szállítónyalábokban. Ez nagyon fontos mechanizmus a növények szisztemikus, azaz egy ponton gerjesztett, de egész szervezetükben indukálódó védelmi válaszának kialakulásában és többek közt lehetővé teszi egy vírus vagy transzgén elleni védekezés beindítását a növény azon pontjain is, ahol az adott fenyegetés még nem jelent meg.



7.22. ábra Az RNS-csendesítés mechanizmusai

7.5.8. Az RNS-ek transzportja és lebontása

Noha az előbb említett miRNS és siRNS-típusok közül soknak fontos jellegzetessége, hogy képes elhagyni a sejtet, **a legtöbb RNS-molekula csak a sejten belül transzportálódik**. A lehetséges útvonalak a sejtmagból a citoplazmába, a sejtplazmából a sejtmagba és a sejtmagból a sejtalkotókba irányulnak. A legismertebb transzport az **mRNS kijutása a sejtmagból a sejtplazmába**.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

Bioszintézise után az mRNS a sejtmag mátrixában található. Itt játszódik le az érési folyamat (ld. 7.5.6.1.), amelynek teljesen be kell fejeződnie, hogy az mRNS kijuthasson a sejtplazmába. A kijutást **U-RNS típusú snRNS-ek** segítik, számos járulékos fehérjével együttműködve, többek közt ATP-bontás kíséretében. A transzport következő lépése a maghártya **póruskomplex**én való átjutás. A póruskomplex bonyolult felépítésű fehérje együttes, a sejtmag hártyáján 2000-4000 ilyen komplex is megtalálható, a sejtmag teljes import-export anyagcseréje ezeken a pórusokon zajlik, szabályozott körülmények között. Az mRNS-transzport energiaigényes folyamat. Az mRNS kijutásában jelentős szerepű a **poli(A)-kötő transzportfehérje** és egyes kis molekulatömegű G-proteinek is.

A tRNS-ek szintén érésük lezajlása után jutnak ki a sejtmagból, érésük azonban annyira közel zajlik le a maghártyához, hogy annak egyes fehérjéi is részt vesznek benne. A sejt tRNS-készletének transzportja bonyolult folyamat, hiszen pl. a mitokondriumban plasztisz-eredetű és sejtmagban kódolt, tehát a citoplazmából származó tRNS-ek is jelen vannak.

Az rRNS-ek gyakorlatilag a kompletten összeállított 80S riboszómával jutnak ki a sejtmagból, szintén szabályozott módon.

Az RNS-eket bontó enzimeket **ribonukleázok**nak, vagy röviden **RNázok**nak nevezzük. Ezek közül a **monoészteráz** enzimek csak a láncvégi foszfátcsoportok lehasítására képesek, a **diészteráz**ok viszont fel tudják bontani a nukleotidok közti kötéseket is, akár a lánc végén (**exonukleázok**), akár a lánc belsejében (**endonukleázok**). Az RNS-ek érésében számos RNáz részt vesz és ahogy láttuk, nem csak fehérjék, hiszen RNS-ek is rendelkezhetnek RNáz-aktivitással. A magasabbrendű növények RNáz-ainak 70-80 %-a kiválasztódik. A szekréció helye az endoplazmatikus retikulum, ahonnan az enzimek a vakuólumba és a sejtközötti térbe jutnak. A sejten belül az RNáz-aktivitás fő helye a **vakuólum**, de sok növénynél ismert, hogy sejten kívüli térbe is sok RNázt választ ki. A növényekben az RNázok mennyisége és aktivitása az élettani állapottól függően változik; jellegzetesen nő az öregedés (szeneszcencia) során. Az RNázok fontos szerepet játszanak a nukleinsavakban kötött foszfát felszabadításában, visszanyerésében, de bizonyos RNázok nagyon jelentősek a patogénekkel szembeni védekezésben is (ld. pl. 7.5.7.). Az RNázok egyik legfontosabb funkciója az mRNS-ek lebontása. A legtöbb mRNS életideje viszonylag rövid és több komponens által is szigorúan szabályozott (5’ sapka, 3’ farok, RNS-kötő fehérjék, RNáz-ok, RNáz-gátlók). Az RNázok fontos szerepet játszanak abban, hogy az mRNS-ek csak annyi időt töltsenek el a hatóhelyükön, amennyi a kifejeződésükhöz éppen optimális.

7.6. Felhasznált és ajánlott irodalom

Allison L. A.	Fundamental molecular biology.	Wiley-Blackwell, 2007.
Baulcombe D.	RNA silencing in plants.	Nature 431, 356–363, 2004.
Bonnet E., Van de Peer Y., Rouzé P.	The small RNA world of plants.	New Phytol. 171, 451–468, 2006.
Bray C. M., West C. E	DNA repair mechanisms in plants: crucial sensors and effectors for the maintenance of genome integrity.	New Phytol. 168, 511–528, 2005.
Chitwood D. H., Timmermans M. C. P.	Small RNAs are on the move.	Nature 467, 415–419, 2010.
Erdmann V. A., Barciszewski J.	Non coding RNAs in plants. RNA technologies.	Springer-Verlag Berlin, 2011.
Göringer H. U. (szerk.)	RNA editing. Nucleic acids and molecular biology (Gross H. J. szerk.),	Springer-Verlag Berlin, 2008.
Huh J. H., Rim H. J.	DNA demethylation and gene imprinting in flowering plants. In: Epigenetic memory and control in plants. (Grafi G., Ohad N. szerk.). Signaling and communication in plants.	Springer-Verlag Berlin, 2013.
Incarbone M., Dunoyer P.	RNA silencing and its suppression: novel insights from in planta analyses.	Trends Plant Sci (in press), 2013.
Jones R., Ougham H., Thomas H., Waaland S.	The molecular life of plants.	Wiley-Blackwell, 2013.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Láng F. (szerk.)	Növényélettan. A növényi anyagcsere I-II. 2. kiadás,	ELTE Eötvös kiadó, Budapest, 2002.
Law J. A., Jacobsen S. E.	Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals.	Nature Rev. Genet. 11, 204–220, 2010.
Maréchal-Drouard L., Weil J. H., Dietrich A.	Transfer RNAs and transfer RNA genes in plants.	Annu. Rev. Plant Phys. Plant Mol. Biol. 44, 13–32, 1993.
Michaud M., Cognat V., Duchene A. M., Maréchal-Drouard L.	A global picture of tRNA genes in plant genomes.	Plant J. 66, 80–93, 2011.
Sancar A.	Structure and function of DNA photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors.	Chem. Rev. 103, 2203−2237, 2003.
Taiz L., Zeiger E. (szerk.)	Plant physiology. Fifth edition,	Sinauer, 2010.
de Veylder L., Larkin J. C., Schnittger A.	Molecular control and function of endoreplication in development and physiology.	Trends Plant Sci. 16, 624–634, 2011.
Voet D. J., Voet J. G., Pratt C. W.	Principles of biochemistry. Third edition,	Wiley, 2008.
Voinnet O.	Origin, biogenesis and activity of plant microRNAs.	Cell 136, 669–687, 2009.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

8. fejezet - Az aminosav anyagcsere speciális növényi vonatkozásai

szerző: Dr. Tamás László

(Vágújfalvi Dezső emlékének)

8.1. Aminosavak a növényekben

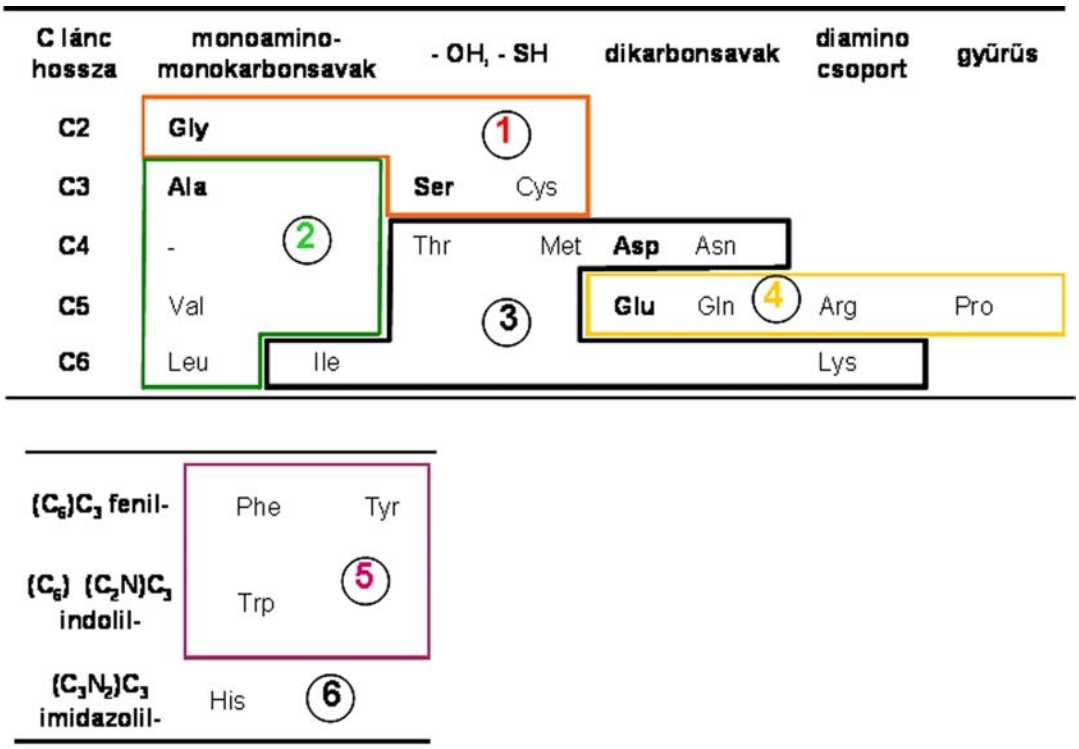
Az aminosavak nem csak azért bírnak nagy jelentőséggel az élőlényekben, mert belőlük épülnek fel a fehérjék, hanem mert fontos prekurzorok különböző anyagcsere folyamatokban. Sokféle univerzális anyag képzésében vesznek részt az élővilág minden csoportjában, de különösen nagy a szerepük a növényekben előforduló, több ezer speciális anyag szintézisében. Ezen szintetikus utak kiinduló vegyületei lehetnek, de az aminosav bioszintézis egyes lépéseiben keletkező molekulák is kiindulásul szolgálhatnak. A speciális anyagok jelentős része a növényeknek csak egyes, nem ritkán szűk csoportjában szintetizálódik. A speciális anyagok képzésével „Másodlagos metabolitok képződése és szerepe” című fejezet foglalkozik. Jelen fejezet az univerzális proteinogén aminosavak képződésével és lebontásával foglalkozik.

A **proteinogén aminosavak** azon molekulák körét jelöli, melyek részt vesznek a fehérjék felépítésében. Az általánosan előforduló, univerzális proteinogén aminosavak száma 20, melyek mindegyikének van saját nukleinsav kódja, tRNS-e és ligáz enzime. A fehérjékben megtalálható aminosavak száma sokszor több mint 20, melynek oka az elkészült fehérjén bekövetkező, úgynevezett „poszttranszlációs” módosítás. Ennek eredményeként keletkeznek a primer beépülésű aminosavak némelyikéből a **speciális proteinogén aminosavak**, mint a hidroxi-prolin hidroxilezéssel, az ε-N-trimetil-lizin metilezéssel, vagy például a 4-karboxi-glutaminsav.

Az univerzális proteinogén aminosavakhoz kapcsolódó csoportja az aminosavaknak az **univerzális nem proteinogén aminosavak**. Ide tartozik egyrészt a 20 proteinogén aminosav képződésének intermedierjei, pl. homoszerin, homocisztein, ornitin, citrullin, illetve melyek a katabolikus folyamatokban keletkeznek, pl. β-alanin, γ-aminovajsav. A teljes csoportosítás végett meg kell említeni a negyedik csoportot is, a **speciális nem proteinogén aminosavak** csoportját, melyek természetes viszonyok között nem fordulnak elő fehérjékben és képzésük nem általános a növényvilágban. Ebbe a csoportba több mint 200 molekula tartozik, pl. a pipekolsav, melyekkel a „Másodlagos metabolitok képződése és szerepe” című fejezet foglalkozik.

A proteinogén aminosavak több féleképpen csoportosíthatók, melyeket a Biokémia részletesen tárgyal. Ebben a fejezetben csak a **szerkezetük alapján való csoportosítást** mutatjuk be az **8.1 ábrán**, melyben feltüntettük a közös úton képződő aminosav családokat is.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



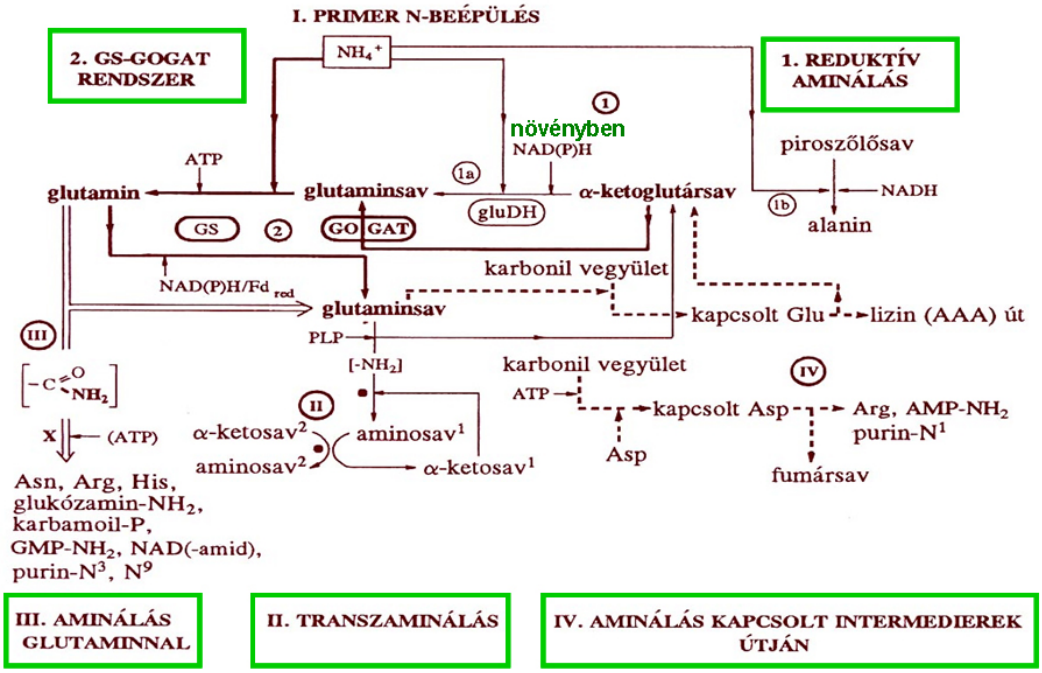
8.1 ábra Az aminosavak csoportosítása oldalláncaik alapján

Az aminosav oldalláncok alapján hat csoportot különböztetünk meg. Ez a hat csoport természetesen nem egyezik meg a képződésük szerint felállított hat csoporttal.

8.2. Az aminosavak nitrogénjének eredete

A N az élők szerves vegyületeibe NH_3, egészen pontosan **NH_4^+ formában lép be**. (Egyetlen **kivétel** ez alól az Asn képződés alternatív útja, ahol cianid formában történik a beépülés (lásd **8.4.3. fejezet**.) A redukált nitrogén NH_3 formában való közvetlen belépését más tudományterületek részletesen vizsgálják, valamint egyes lépéseit ezen könyv **6.1.1.2**. fejezetének egy része, továbbá az **6.1.2.3.**, az **6.1.3.** fejezetei is tárgyalják, jelen részben csak összefoglaljuk a négy fő folyamatot, melyet egy összefoglaló **8.2. ábrán** is bemutatunk.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



8.2. ábra A nitrogén aminosavba való beépülésének lehetséges útjai

8.2.1.Primer nitrogén beépülés

E folyamatnak két szála van. Az egyik kevésbé jelentős a növényekben (reduktív aminálás), míg a másik elsősorban a növényekben jelentős (GS-GOGAT).

A ketosavak **reduktív aminálásadehidrogenázok** részvételével zajlik, pl. piroszőlősavból alanin-dehidrogenáz enzim segítségével **NADH** jelenlétében alanin keletkezik, vagy α-ketoglutársavból glutaminsav. Ez utóbbi folyamatban, mely a legelterjedtebb dehidrogénezési folyamat, különböző redukáló ágens biztosíthatja a redukáló erőt attól függően, hogy a növény mely részében történik a redukció. A mitokondriumban a NADH, míg kloroplasztiszban mind NADH és NADPH.

A **GS-GOGAT** rendszer mennyiségileg is a legjelentősebb NH_3 fixálási folyamat. A glutaminsavból a glutamin-szintetáz (GS) enzim ATP jelenlétében Gln-t szintetizál. Ebből a glutamát-szintáz (GOGAT) enzim α-ketoglutársav jelenlétében 2 Glu-t képez. A redukcióhoz szükséges reduktáns levelekben a redukált ferredoxin, míg gyökerekben és fejlődő magvakban ferredoxin, NADH és NADPH is lehet.

Az α-ketoglutársav molekulát a növényben mindkét rendszer [glutaminsav-dehidrogenáz (GDH) és GS-GOGAT] felhasználhatja az NH_3 asszimilációjára. A két folyamat aránya függ a **növényi szövet típusától, a növény fejlődési állapotától és a rendelkezésre álló NH_3 mennyiségétől**, koncentrációjától. Magas NH_3-szint a GDH enzimet indukálja. A GS enzim aktivitását a rendelkezésre álló ATP mennyisége szabályozza, amire a GDH oxidatív irányú működése is jelentős hatással van.

8.2.2. Transzaminálás

A fentebb ismertetett úton asszimilált nitrogént más aminosavakba a transzaminázok, vagy aminosav-transzferázok viszik át a keletkezett glutaminsavból. A folyamathoz szükség van egy **aminosav donorra** és egy α-ketosav **akceptorra**. Az akceptor molekulától függően keletkezik Asp az oxálecetsavból, Gly a glioxálsavból, vagy Ala a piroszőlősavból. A folyamat közben regenerálódik az α-ketoglutársav, ami visszaléphet az elsődleges NH_3-kötő folyamatba, s így jöhet létre egy ciklus. A transzamináz enzim katalizálta reakció többnyire reverzibilis, mely alól kivétel a glioxálsav → Gly reakció. Koenzime a **piridoxálfoszfát (PLP)**, ami legtöbbször erősen kötődik az enzimhez. A növényekben sok változó specificitású transzaminázt mutattak ki. Különbségek vannak a különböző növényekből előállított enzimek között is a donor és az akceptor tekintetében egyaránt. (A karfiol enzimje működik

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

mind α-ketoglutársavval, mind oxálecetsavval, de a donorok eltérő aktivitásúak a két akceptor esetében). Viszonylag elkülöníthetőek az α-ketoglutársav és oxálecetsav, valamint a piroszőlősavval és a glioxálsavval működő enzimek. A transzaminázokat megkülönböztethetjük aszerint, hogy milyen aminodonorokat használnak fel. Ezek alapján vannak melyek a szerinről, a glutaminról, aromás aminosavakról, vagy éppen az ornitinről viszik át az aminocsoportot az akceptor molekulára.

A proteinogén aminosavakon kívül **más aminosavak** is képződhetnek ketosavakból, de **aldehidek is lehetnek** a nitrogén akceptorai.

Az aminosav szintézist részletesen bemutató ábrákon a transzaminálás folyamatát **egy ponttal jelöljük** a nyíl mellett.

8.2.3. Aminálás glutaminnal

Egyes aminosavak képződése során olyan nagy specificitású reakciók is lejátszódnak, melyben a nitrogén **donor csak a glutamin lehet**. Ilyen történik pl. az aszparagin képződése során (ahol egy amid → amid átvitel történik, azaz transzamidálás), vagy a Trp és a His gyűrűbeli N-jének belépésekor, a purin bázisok N_3- és N_9-helyzetű nitrogénjének bevitelénél, ill. a **karbamoil-P** képződésekor. A karbamoil-P az Arg és a pirimidin bázisok szintézisében vesz részt. A reakcióban szereplő enzimeket szintetázoknak nevezik és ATP-t igényelnek.

Az elkövetkező ábrákon az aminálás glutaminnal típusú reakciókat a nyíl melletti X-el jelöljük.

8.2.4. Aminálás kapcsolt intermedierek útján

A negyedik csoportba tartozó reakció az előzőnél is speciálisabb. A reakcióban az Asp és a Glu vehet részt, mint N donor. Az aminocsoport nitrogénjén keresztül kapcsolódik az akceptor molekula szénatomjához és **egy C-N kötés jön létre**. Az Arg bioszintézise során a **citrullinhoz** kapcsolódik az Asp, és így arginino-borostyánkősav jön létre. A kapcsolt összetett molekulából **kihasad a fumársav** úgy, hogy az Asp nitrogénje az akceptoron marad, s létrejön az Arg. Hasonló „**kapcsolt reakció**” az AMP képződés során is megfigyelhető. Az IMP (inozin-5-monofoszfát) kapcsolódik az Asp-vel és adeniloszukcinát jön létre, melyből a fentebb említett fumársav kilépésével AMP keletkezik. Pontosan ilyen reakcióban kerül be a purin gyűrűbe az N^1 is. Az enzimet szintetáznak és liáznak nevezik, melyek ATP igényes reakciókban katalizálják a reakciókat.

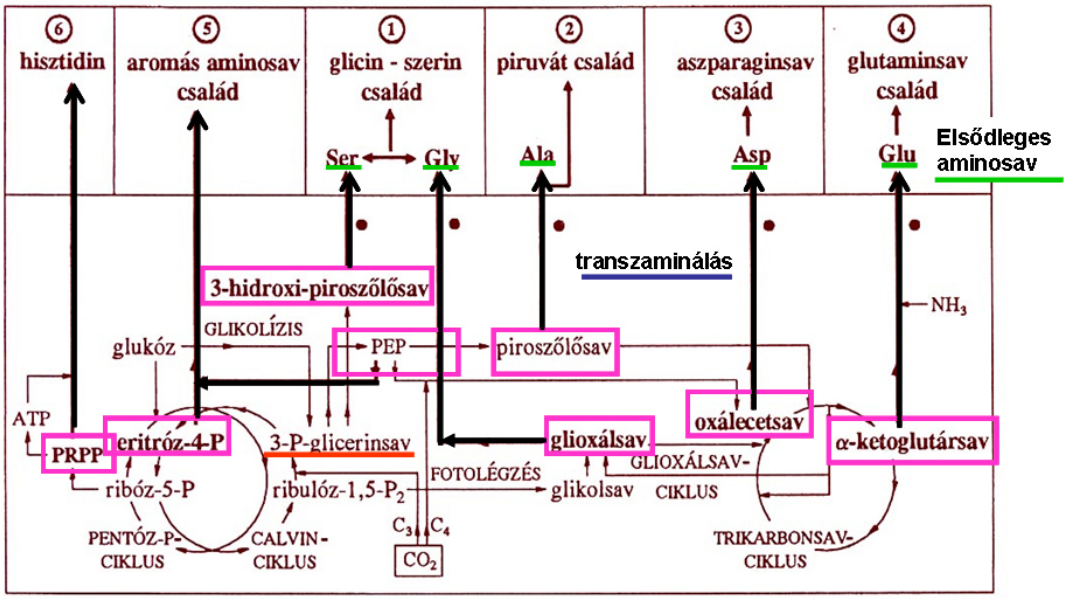
Hasonló, analóg reakciókban szerepelhet a Glu is a Lys képződése egyik úgynevezett AAA (α-aminoadipinsav) útján. Ebben a folyamatban a Glu az α-aminoadipinsav-félaldehidhez kapcsolódik, s így keletkezik a szaharopin, melyből kihasad az α-ketoglutársav, s létrejön a lizin.

Érdekes, hogy **hasonló „kapcsolt” úton adódik át a kén** az elsődleges kéntartalmú aminosavból, a ciszteinből, egy C-4 vázú molekulához történő kapcsolódással, cisztationon keresztül, a metionin képződése során.

8.3. Az aminosavak szénvázának eredete

A 20 aminosav szénváza a fotoszintézis és a légzés néhány intermedierjéből képződik, pontosabban hat olyan reakciósor folyamán alakul ki, melyek kiinduló vegyületei a fent említett folyamatok nyolc intermedierje. Az aromás aminosavak szintézise két molekulából indul ki, míg a glicin-szerin csoport aminosavai szintézisének két lehetséges kiindulópontja van. Az aminosavak csoportosítása a bioszintézis útnak megfelelően is történhet, s ez alapján **hat családba soroljuk**, melyet a **8.3. ábra** mutat be. A nyolc kiinduló vegyületet vastag betűvel jelöltük, s az ezekből kiinduló vastag nyilak a megfelelő családokhoz vezetnek. A transzaminálással elsődlegesen képződött aminosavakat is mutatja a **8.3. ábra**.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



8.3. ábra Az aminosavak szénvázának eredete

Az **1 jelű család** két elsődleges aminosava közül a **szerin** a fotoszintézis **Calvin ciklusában**, ill. a **glikolízis** során keletkező 3-P-glicerinsavból képződik úgy, hogy a glicerinsav átalakul 3-hidroxi-piroszőlősavvá, s ez a molekula transzaminálódik. A **glicin** a glioxálsavból képződik transzaminálással. A glioxálsav a **fotolégzés** során keletkező glikolsavból származik, de a **glioxálsav ciklusban** is keletkezik.

A **2. család** elsődleges aminosava, az **alanin** szintén a 3-P-glicerinsavból kiindulva képződik, ami a PEP-on át vezet a transzaminálódásban résztvevő piroszőlősav szintéziséhez.

A **3. és 4. család** elsődleges aminosavai, az **aszparaginsav** és a **glutaminsav** a **Szent-Györgyi-Krebs ciklusban** keletkező oxálecetsavból és α-ketoglutársavból képződnek transzaminálással. Az utóbbi molekula primer aminálással is átalakulhat Glu-vá. Az oxálecetsav ezen kívül a **C-4-es növények** CO_2-fixálásának is a terméke.

Az **5 jelű családban** található három aminosav közül **egyik sem elsődleges**, de bioszintézisük kezdeti szakasza közös, mely az eritróz-4-P és a PEP összekapcsolódásával kezdődik. Az eritróz-4-P a Calvin ciklusban, vagy a pentózfoszfát ciklusban keletkezik.

A **6. családba** egyetlen aminosav tartozik, a **hisztidin**, amelynek szintézise az előbb említett két ciklusban keletkező ribóz-5-P-nak a származékából, a P-ribozil-pirofoszfátból (PRPP) indul ki.

A fentebb említett folyamatokat áttekintve megállapíthatjuk, hogy a 20 proteinogén aminosav szintézise kiindulási molekuláinak biztosításában a növények legalapvetőbb anyagcsere folyamatainak mindegyike részt vesz: a fotoszintetikus CO_2-fixálás C-3-as és C-4-es útja, a fotolégzés, a glikolízis, a glioxálsav-, a pentózfoszfát- és a Szent-Györgyi-Krebs ciklus, sőt a purin anyagcsere is az ATP bekapcsolódása révén.

8.4. Az aminosavak bioszintézise

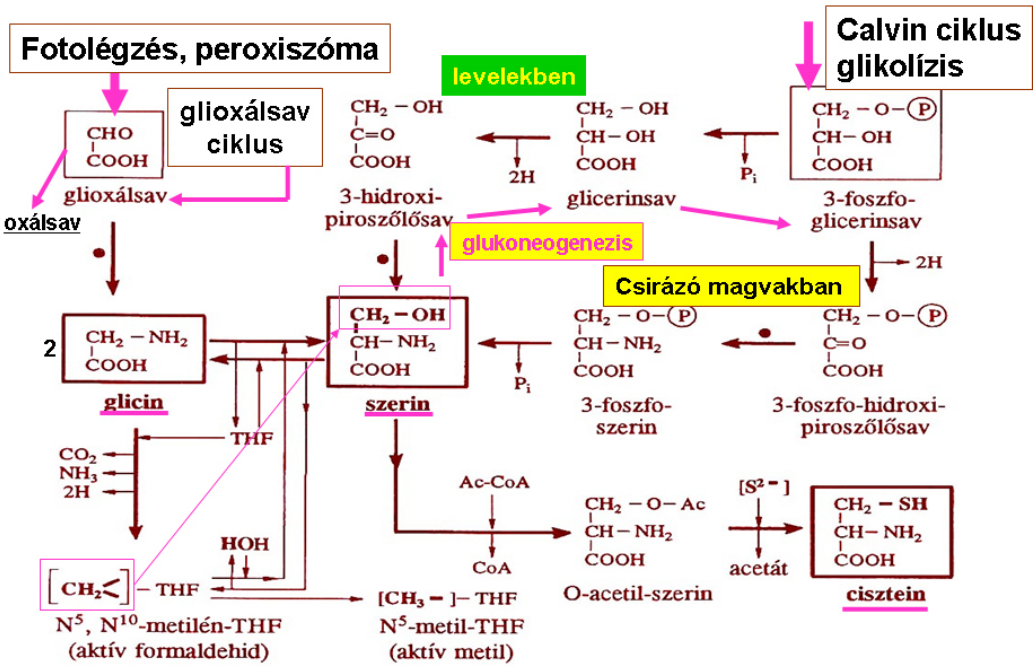
Ellentétben más élőlényekkel, a magasabbrendű növények képesek mind a 20 proteinogén aminosavat szintetizálni. Az emberi szervezet erre nem képes. Így azokat, melyeket nem tud bioszintetikus utakon előállítani, kívülről adott fehérjékből kell beszerezze a táplálkozás során. Az ember esetében a 10 nem szintetizálódó aminosavat **esszenciális aminosavnak** nevezzük. A Cys és a Tyr helyzete azért különleges, mert ugyan nem esszenciálisak, mégis hiányzik *de novo* képződésük, mert **más esszenciális aminosavakból jönnek létre**; a Tyr fenilalaninból, a Cys metioninból képződik az emberi szervezetben.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A növényi aminosav-bioszintézis megismerése egyben az univerzális proteinogén aminosavak *de novo* képződésének megismerése is. A következőkben aminosav családonként ismertetjük a bioszintézis folyamatait. A kép igen változatos, bonyolult és összetett, ami jól tükrözi az aminosavak funkciós csoportjainak összetettségét is.

8.4.1. A glicin-szerin család aminosavainak képződése

A családba **3 aminosav tartozik**, a glicin, a szerin és a cisztein. A központi helyet a szerin foglalja el, míg **a glicin részben, a cisztein egészen a Ser-hez kapcsoltan képződik** (**8.4. ábra**). A szerin szintézisének három fő útja van. Kettő a 3-P-glicerinsavból indul ki, míg a harmadik a glicinből. A Calvin ciklusban (ez a fontosabb módja), de a glikolízis során is keletkezik 3-P-glicerinsav. A szerin szintéziséhez ebből a molekulából kiindulva két út vezet; az egyik **foszforilezett**, a másik **foszfor nélküli** intermediereken keresztül játszódik le. A nem-foszforilált út első lépéseként defoszforilezés történik, melynek során glicerinsav keletkezik, amiből egy következő lépésben (dehidrogénezés NAD koenzim segítségével) 3-hidroxi-piroszőlősav képződik. Ez az α-ketosav transzaminálással szerinné alakul. Ez az út **elsősorban a levelekben működik**, melyhez a foszfatáz enzim nagy mennyiségben rendelkezésre áll, különösen a C4-es növényekben.



8.4. ábra A glicin-szerin családba tartozó aminosavak képződésének reakcióútjai

A foszforilezett intermediereken át történő Ser képződés **leginkább csirázáskor történik**. Az aminosav szintézis ezen útja csak a reakciók sorrendjében különbözik az előző úttól, mert itt dehidrogénezés – transzaminálás – defoszforilálás a reakciók sorrendje. Az ezekben a folyamatokban közreműködő enzimek természetesen mások, mint a korábban leírtakban.

A glicinnek is van saját képződési útja, mely glioxálsavból indul ki. A glioxálsav a glioxálsav ciklusból származik, de keletkezik a kloroplasztiszban is a **fotolégzés során kapott P-glikolsavból**, mely a peroxiszómában alakul át a glicin szintézis kiindulási vegyületévé. A növény nitrogén ellátottságától függően a glioxálsav tovább oxidálódhat oxálsavvá. Elegendő N esetén ellenben glicinné transzaminálódik. Az irreverzibilis transzaminálást végző egyik enzim N donora lehet a Glu és az Ala, míg a másik enzimé a Ser.

A Gly és a Ser egymásba is alakulhat reverzibilis módon, de ez **nem jelenti azt, hogy egy enzim reverzibilis módon működik**. Az átalakításhoz szükséges egy tetrahidrofolsav (THF) nevű koenzim, s ez a reakció egyben a **növények C_1-anyagcseréjéhez kapcsolódó** nagy jelentőségű általános folyamat része. Ha a Gly → Ser átalakulás irányából indulunk ki a reakció bruttó egyenlete: **$2Gly + H_2O = Ser + CO_2 + NH_3 + 2H$**. A két Gly molekula egyike enzimatikusan elbomlik, s keletkezik CO_2, NH_3 és 2H (azaz $2H^+$, valamint $2e^-$). A másik szén a THF-hez kötődik, s létrehozza az N_5,N_{10}-metilén-THF nevű molekulát. A hidratálódás során keletkezik az N_{10}-hidroxi-

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

metil-THF, s ez adja át a másik glicin molekulának a $–CH_2OH$ csoportot, s így létrejön a szerin. [Az N_5,N_{10}-metilén-THF valójában egy **aktív formaldehid** csoportot tartalmaz, ami N_5-metil-THF-é redukálódva az anyagcsere **elsődleges metil donora** lesz, s legfőbb funkciója a metionin aminosav metil csoportjának létrehozása (lásd **8.4.3.** fejezet)]. A fordított irányú reakcióban a Ser hidroximetilje kerül át a THF-re, s az így keletkezett molekula szintén beléphet a sejt C_1-pooljába.

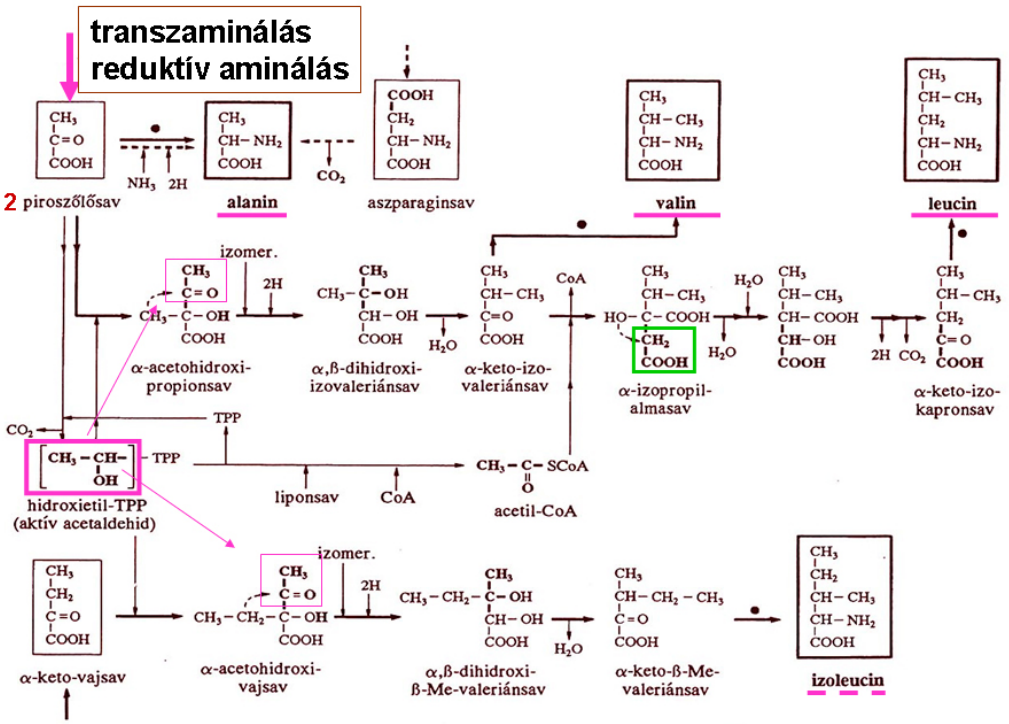
A glicinből keletkező nagy mennyiségű Ser felhasználása nem csak a fehérjeszintézisben lehetséges. Az intenzív fotolégzés során keletkező nagy mennyiségű glioxálsav a szerin aminosavon keresztül hexózzá, ill szaharózzá alakulhat. Ez a **glukoneogenezis** egyik változata, amikor a nem foszforilált intermedierek útján, az enzimek reverzibilis működésének eredményeként a szerinből 3-P-glicerinsav keletkezik, s ebből a **glikolízis fordított irányú reakciósorán** jutunk szénhidrátokhoz. Ennek az útnak a jelentősége igen nagy, növényfajtól és a külső viszonyoktól függően **eltérő arányban keletkezhet szaharóz** a Calvin ciklus egyik intermedierjéből és a fotolégzés glikolátjából kiindulva. A *Triticum* fajokban a glikolát út aránya 40-75%.

Az átalakulás közben keletkező **NH_3 sem vész el a növényi sejt számára**, mivel a GS-GOGAT, vagy a GDH enzim segítségével újra fixálódik, azaz újra Glu keletkezik, ami részt vehet a glioxalát transzaminálásában. Ennek eredményeképpen a Gly elbomlásakor keletkező NH_3 visszajut a glioxálsavból képződő glicinbe.

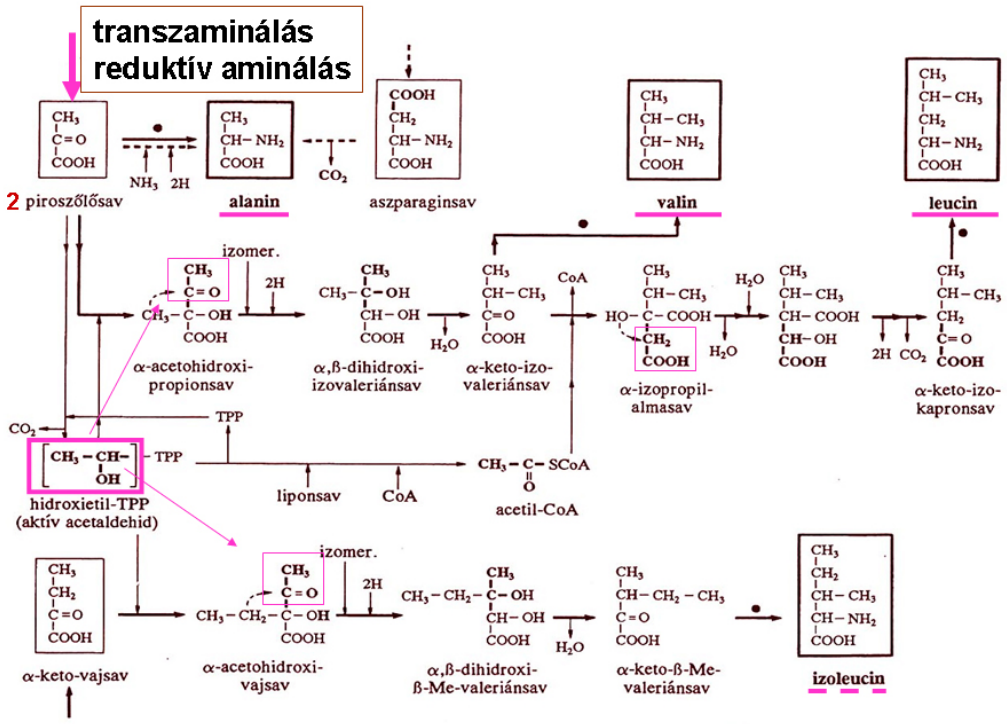
A cisztein képződésének az S-anyagcsere szempontjából hasonlóan nagy a jelentősége, ugyanúgy, mint a glutaminsavnak a N-anyagcserében. A redukált kén asszimilációjának első terméke a Cys, mely a kén továbbadója a növényekben. Képződése során a Ser és Ac-CoA reakciója eredményeként O-acetil-szerin keletkezik, majd ebbe lép be a szulfátredukció terméke. A Cys képződésének ez a legfontosabb, szinte kizárólagos útja.

8.4.2. A piruvát család aminosavainak szintézise

Ebbe a családba szintén **3 aminosav tartozik**, az alanin, a valin és a leucin. A piroszőlősavból kiinduló szintetikus utakban **3, 5 és 6 szénatomos molekulák keletkeznek** két, ill. egy szénatom hozzáadásával, melyek jellegzetes mechanizmusokon keresztül történnek (lásd **8.5. ábra**).



XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



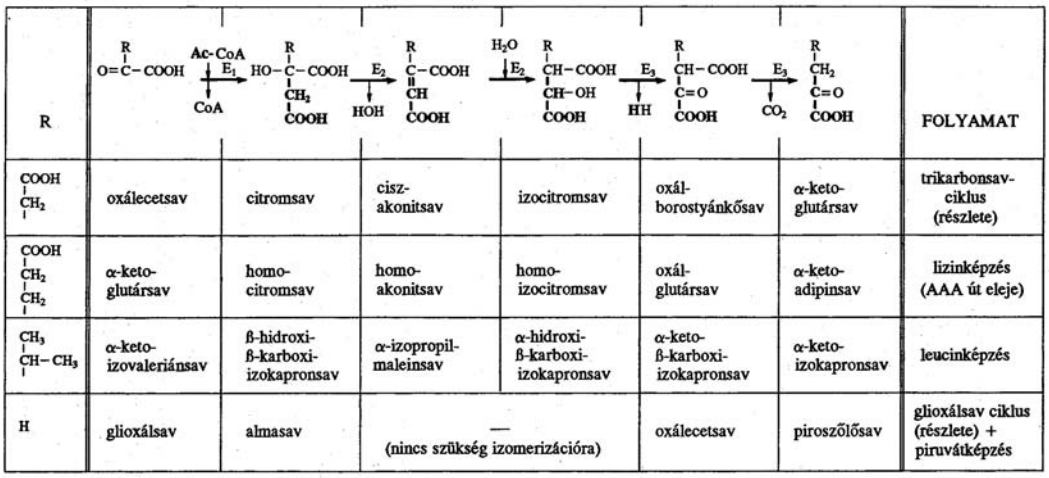
8.5. ábra A piruvát családba tartozó aminosavak képződésének reakcióútjai

Az **alanin a piruvátból keletkezik** közvetlen transzaminálással. A N donora bármely aminosav lehet *in vitro* vizsgálati eredmények szerint. Mint korábban már említettük ezen az alapvető úton kívül van egy másik lehetséges szintézis út is, a reduktív aminálás, melynek **enzimét növényekből kimutatták**. Az aszparaginsav dekarboxilezésével történő alanin képződés jelentősége nem ismert a növényekben, s enzimét is csak mikroorganizmusokban mutatták ki.

A **valin képződéséhez** a piroszőlősav szénvázát két szénatommal kell hosszabbítani. A zsírsavciklusból jól ismert általánosan elterjedt a malonil-CoA-ból kiinduló, acetil csoport beépülésével járó folyamattal szemben a Val képződésekor egy teljesen eltérő reakciósort írtak le. Ezt megkülönböztetésül „**α-ketosavak C_2-lánchosszabbítási mechanizmusa**” névvel említik. A folyamat emlékeztet a 2Gly → Ser + CO_2 átalakulásra, azaz **két piroszőlősavból indul ki**, keletkezik CO_2 és egy α-acetohidroxi-propionsav, vagy α-aceto-tejsav, amiből később valin szintetizálódik. A reakcióhoz szintén koenzim szükséges, s ezt a szerepet a **tiamin-pirofoszfát (TPP)** tölti be. Az egyik piruvát dekarboxilezése utáni hidroxi-etil (-CH_2-CH_2-OH) „maradékot” a TPP veszi fel (**aktív acetaldehid**), majd adja át a másik piruvátnak. (A TPP szerepe jól ismert a Biokémiából az α-ketosavak dekarboxilezését ismertető folyamatban). A hidroxi-etil csoport a piroszőlősav α-helyzetű szénjéhez kapcsolódik, s létrehozza az α-acetohidroxi-propionsavat. A következő lépésben izomerizációval a metil csoport átkerül a β-pozícióba, majd a karbonil csoport redukálódik, s a keletkezett molekula dehidratálódik. Ennek a reakciósornak a végeredménye az **α-keto-izovaleriánsav, a fontos elágazási pontot** jelentő intermedier. Transzaminálással ebből keletkezik a valin, másrészt ez a leucin szintézise felé vezető út kezdete.

A **leucin szintézise** az 5 szénatomos α-keto-izovaleriánsav-ból indul ki, azaz a láncnak egy szénatommal kell hosszabbodni. Ez az „**α-ketosavak C_1-lánchosszabbítási mechanizmusa**” névvel illetett módon történik. Az **5 lépésből álló, 3 enzim katalizálta reakciósor** érdekessége, hogy ezen kívül még számos más anyagcserefolyamatban is szerepel (lásd **8.6. ábra**). Az első lépésben az α-szénhez kapcsolódik az acetil-CoA acetil csoportja. Az így keletkezett molekulán az –OH csoport izomerizáció során (két lépésben) áthelyeződik egy másik szénatomra. A 4. lépésben dehidrogéneződés, majd az 5-ben dekarboxilezés történik, s ennek eredményeként létrejön a kiindulási molekulához képest egy szénatommal hosszabb molekula, melynek transzaminálásával keletkezik a leucin. Az „α-ketosavak C_1-lánchosszabbítási mechanizmusa” **más molekulákból kiindulva, természetesen más enzimek közreműködésével, is végbemegy, végbemehet**.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



8.6. ábra A leucin aminosav képzésében is szereplő „α-ketosavak C_1-lánchosszabbítási mechanizmusa”

Ezek a **ketosavak** elemei lehetnek **alapvető anyagcsereutaknak**, mint pl. a Szent-Györgyi-Krebs ciklus (oxálecetsav), vagy más aminosav szintézis útnak, pl. Lys képződése az AAA úton (α-ketoglutársav), stb. (lásd a **8.9. ábrát**).

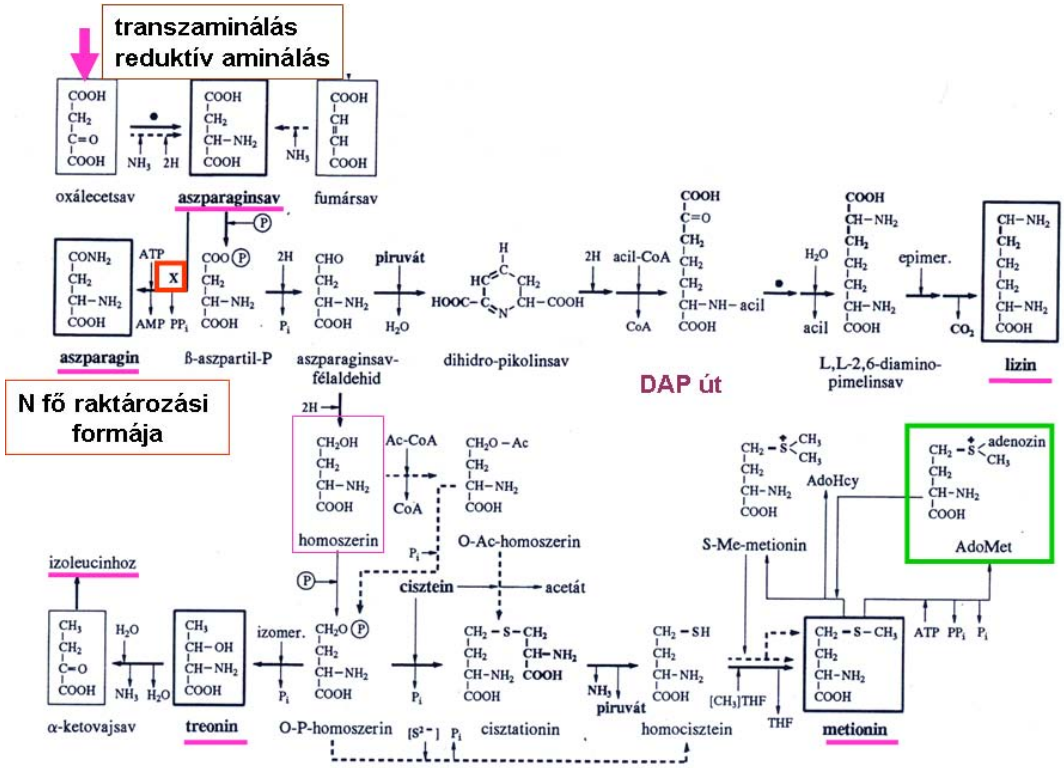
A piruvát család aminosavai bioszintetikus útjainak tárgyalását ugyan a leucin szintézisével befejeztük, de érdemes itt ismertetni az **izoleucin szintézisét** is. Ennek az az oka, hogy a kiindulási C_4-es ketosavból **ugyanavval a C_2-lánchosszabbítási mechanizmussal** jön létre az Ile váza, mint a piruvátból a Val váza. Természetesen nem szabad elfelejteni, hogy az Ile szintézise az aszparaginsavból indul ki, azaz a szénváz eredete alapján abba a családba tartozik. A két reakciósor hasonlósága mellett az is indokolttá teszi azonban, hogy itt mutatjuk be bioszintézisét, hogy nem csak a reakció út azonos, hanem **ugyanaz a 4 enzim** katalizálja a reakciókat. Az enzimeknek kettős specificitásuk van. Ezt azért fontos kiemelni, azért is érdekes, mert **az enzimeken keresztül a két család aminosav szintézisének szabályozása összekapcsolódik**.

Az **izoleucin képződésének** kiindulási molekulája a 4 szénatomos **α-keto-vajsav**. Ehhez kapcsolódik a piroszőlősavból származó hidroxi-etil-TPP, s egy hat szénatom számú α-acetohidroxi-vajsav keletkezik. Az ezt követő izomerizációban nem egy metil csoport, hanem egy etil csoport kerül át a β-pozícióba. Ezután szintén redukció és dehidratáció következik, aminek eredményeként létrejön α-keto-β-metil-valeriánsav. Ez a molekula transzaminálással alakul izoleucinná. Az izoleucin különleges helyzete tehát abból adódik, hogy bioszintézise a 3. családhoz kapcsolja, de a folyamat második szakasza az enzimek révén a 2. családhoz is.

8.4.3. Az aszparaginsav család aminosavainak szintézise

Ebben a családban van a legtöbb, azaz összesen **hat aminosav**; aszparaginsav, aszparagin, treonin, metionin, izoleucin és lizin. Nem csak a legkiterjedtebb család, de képződésük is igen változatos. A család a nevét a további 5 aminosavhoz vezető szintetikus út kiindulási molekulájától, az aszparagintól kapta (**8.7. ábra**).

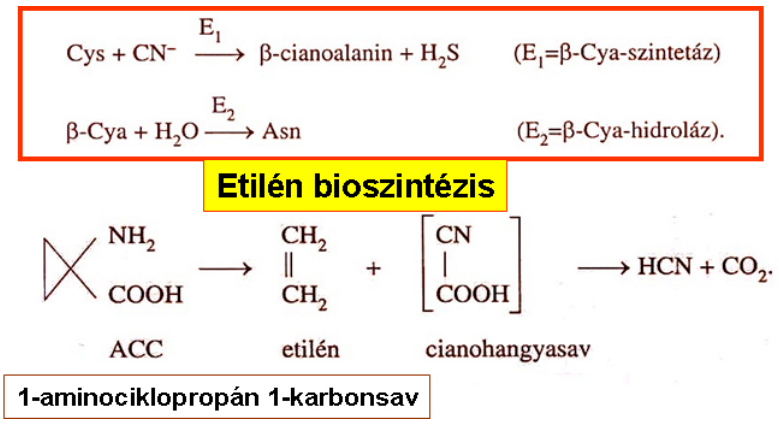
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



8.7. ábra Az aszparaginsav családba tartozó aminosavak képződésének reakcióútjai

Az **Asp transzaminálással az oxálecetsavból** keletkezik, melyhez a N-donor a Glu. A nitrogén beépülésének mennyiségileg legjelentősebb útja az NH_3 → Gln → Glu → Asp → Asn reakció sorral írható fel, mivel az Asp aminocsoportja jelentős részben az aszparaginba kerül. Ez utóbbi vegyület (Asn) a **növények nagy részében, mint a nitrogén fő transzport- és raktározási formája szerepel**. Az Asp képződésének **két alternatív útja van**, reduktív aminálás oxálecetsavból, valamint direkt aminálás fumársavból, de egyik sem nagy jelentőségű. Az Asp továbbalakulásának egyik iránya a **8.2.3.** fejezetben említett aminálás glutaminnal. **Növényekben egyértelműen Gln a nitrogén donor**.

A növényekben teljesen **más úton** is képződhet aszparagin (**8.8. ábra**). A reakció utat úgy ismerték fel, hogy a kívülről adott cianidot minden vizsgált növény, ha eltérő mértékben is, beépítette β-cianoalaninba (β-Cya). Ez a molekula a növények nagy részében aszparaginná hidrolizált. A **cianid megkötő enzim** úgy tűnik, hogy a növények körében általánosan elterjedt. A cianogén glikozidokat tartalmazó növényeken túl más növényekben nem volt ismert a cianid jelenléte mindaddig, míg fel nem fedezték, hogy az **etilén bioszintézise során** melléktermékként, valószínűleg minden növényben keletkezik.



8.8. ábra Az aszparagin aminosav képződésének alternatív útja a növényben

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A család további négy aminosava felé az út a β-aszpartil-foszfáton keresztül képződő **aszparaginsav-félaldehidből** indul ki és ágazik el mindjárt.

A lizin bioszintézisének két egymástól teljesen eltérő útja van. Az itt ismertetett szintézis **megy végbe a növényekben**, valószínűleg kizárólagosan. Ezt az utat az egyik jellegzetes intermedierjéről **diaminopimelinsav (DAP)** útnak nevezik. (A glutaminsavból kiinduló utat a későbbiekben mutatjuk be a két út előfordulásának pontosításával együtt). A félaldehidhez kapcsolódó piruvát eredményeként, vízkilépés után létrejön egy gyűrűs molekula, a dihidro-pikolinsav. A **piridin gyűrűs** molekula előbb redukálódik, majd szukcinil csoport kapcsolódik hozzá az N-atomon keresztül a szukcinil-CoA-ból, s ezután a gyűrű felnyílik. A keletkezett stabil nyílt láncú molekula transzaminálódik, majd az ezt követő hidrolízis, epimerizáció és dekarboxilezés eredményeként kialakul a lizin aminosav.

A további 3 aminosav felé vezető közös út az aszparaginsav-félaldehidből indul ki. Két lépésben, először az aldehid csoport redukálódik alkohollá, majd ennek a foszfát észtere az **O-P-homoszerin** jön létre. Ez a molekula az **elágazási pont** a metionin, ill. a treonin és az izoleucin szintézis felé.

A **treonin** egyetlen lépésben, egyetlen enzim segítségével keletkezik úgy, hogy **PLP koenzim** jelenlétében az O-P-homoszerin defoszforilálódik, ill. izomerizálódik (a hidroxil csoport az α-helyzetű szénatomról a β-helyzetűre kerül át). A **treoninból az izoleucin felé vezető út** intermedierje, az α-ketovajsav egyetlen lépésben képződik, a valin képződéssel analóg reakciókban, ahogyan azt korábban megismertük.

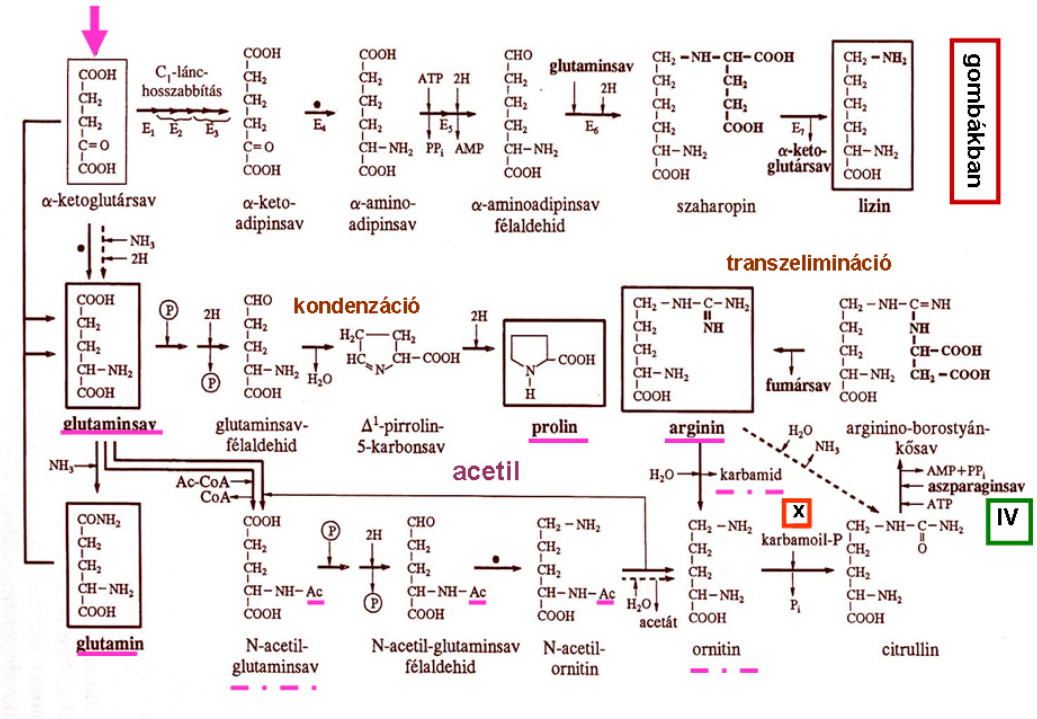
A **metionin szintézis** felé az elágazás a baktériumokkal és a gombákkal ellentétben a **növények túlnyomó többségében az O-P-homoszerin**. A kén bevitele a molekulába úgy történik, hogy a homoszerin észterezett **hidroxil csoportja lecserélődik –SH csoportra** több lépésen keresztül. Az átmeneti molekula ezen az úton, a **cisztation kétféleképpen keletkezhet**, mindkét utat leírták. A homoszerin → O-Ac-homoszerinen át vezető reakciósorhoz hasonlót említettünk korábban a cisztein szintézisekor, de mint kiderült nem ez a Met prekurzorának, a cisztationnak a fő képződési útja. A kisebb jelentőségű, szulfhidrációs útnak nevezett szintetikus út mellett **alapvetően a cisztation O-P-homoszerin és cisztein reakciójából keletkezik** defoszforilezés mellett. Következő lépésbe úgynevezett β-bomlás történik a S és a C_3-váz szénatomja között, s piroszőlősav, valamint NH_3 képződése mellett létrejön a homocisztein. A metioninná alakuláshoz már csak egyetlen lépés kell, az –SH csoport metilezése. A *de novo* metilezés **metildonora az N^5-metil-THF**, amiről a Gly → Ser közötti átalakuláskor már volt részletesen szó. Az **elsődleges metildonoron kívül van még két másik is**, de ezek mind **metioninból keletkeznek**. Az egyik az S-adenozil-metionin, melyet **AdoMet**-ként rövidítünk. Ez az élők anyagcseréjének egyik alapvető fontosságú vegyülete, a **metionin aktivált formája**, mely az egész anyagcserében az **univerzális metildonor**. A nagy energiájú **szulfónium vegyület**, az AdoMet számos más reakcióban is részt vesz.

A másik metildonor vegyület az ilyen nem *de novo* Met-képző reakcióban az S-metilmetionin. Ez a szintén szulfónium szerkezetű molekula is az AdoMet-tel történő transzmetilezésben jön létre. Ez a molekula két metioninból képződik, két metil csoportot tartalmaz, s valószínűleg **raktározó szerepe van**. Az AdoMet ilyen funkcióra nem alkalmas, egy adott koncentráció felett leállítja a metionin és ezen keresztül saját képződését is.

8.4.4. A glutaminsav eredetű család aminosavainak szintézise

Ebbe a családba **négy aminosav tartozik**, a glutaminsav, a glutamin, az arginin és a prolin. A család aminosavainak **bioszintézise a glutaminsavhoz kapcsolódik**, de ebben a fejezetben említjük meg az α-ketoglutársavból képződő lizin kizárólag gombákban lejátszódó bioszintetikus útját is (**8.9. ábra**). Az aminosav család két tagjának (Glu és Gln) eredetével, szintézisével korábban már részletesen foglalkoztunk, így ezekről itt és most nem lesz szó. A két aminosav egymástól független két úton keletkezik, ami csak anabolikus viszonyok között igaz. Katabolikus folyamatokban, pl. öregedés során, vagy speciális feltételek között a két aminosav anyagcseréje közötti kapcsolat jelentős.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



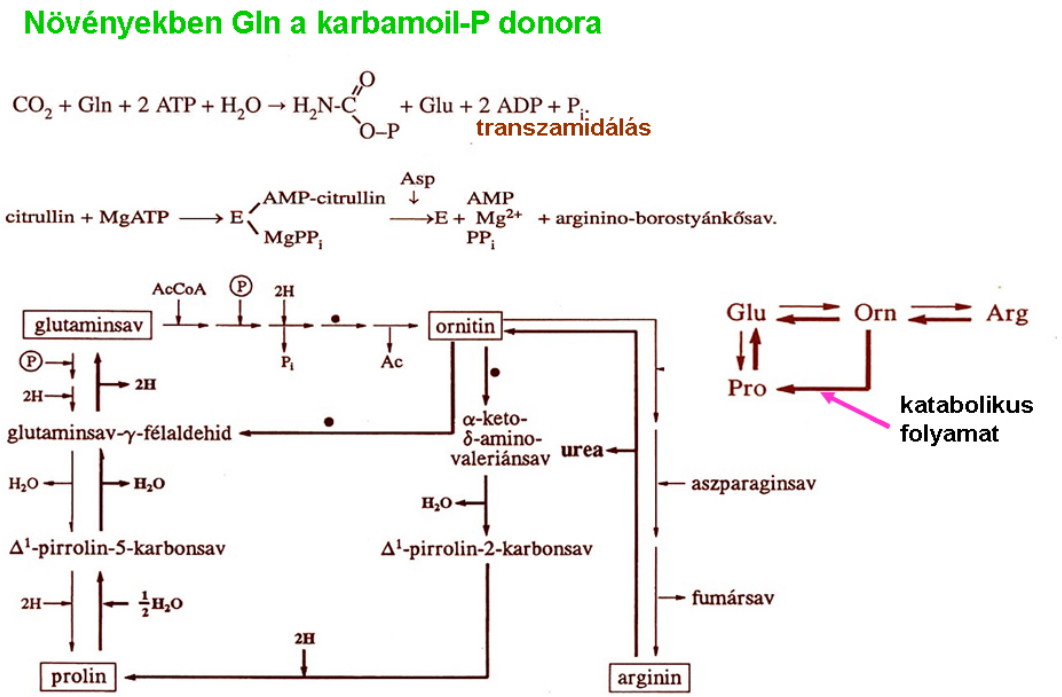
8.9. ábra A glutaminsav családba tartozó aminosavak képződésének reakcióútjai

A **prolin** képződése kezdeti szakaszában a Glu foszforilálódik, redukálódik, majd defoszforilálódik, s egy **glutaminsav-félaldehid** keletkezik. Ez a molekula gyűrűvé záródik kondenzáció (vízmolekula kilépése) során, s létrejön egy öttagú heterociklusos vegyület. Befejező lépésben a kettőskötés redukálódik NADH, kisebb hatékonysággal NADPH segítségével és ezzel létrejön a prolin aminosav.

Az **arginin** képződéséhez hosszabb út vezet, mely **két ciklusból áll**. Az első ciklusban (N-acetil-glutaminsav ciklus) **Ac-CoA acetilálja az aminocsoportot**. A Glu γ-karboxil csoportja foszforészter intermedieren át aldehiddé redukálódik. Az acetilezés megakadályozza az N blokkolásán keresztül a ciklizációt, ellentétben a prolin képződése során megismert lépéssel. Az így keletkezett N-acetil.glutaminsav-félaldehid transzaminálódik, majd transzacilezéssel egy nem proteinogén aminosav jön létre az ornitin. Az acetil csoport a transzacilezés eredményeként a Glu nitrogénjére kerül az acetiltranszferáz enzim katalizálta reakcióban. Így **zárul ciklussá az első reakciósor**, melyben nem vész el az N-acetil kötés energiája, azaz acetil-CoA-t takarít meg a növényi sejt a ciklus működésének köszönhetően. Csak a ciklus beindításához van szükség a tioészter-kötésből származó energiára a ciklus forgása közben megmarad a rendszerben. Az Orn aminosav már a másik, **az urea, vagy ornitin ciklusba** tartozik. Ez a körfolyamat már nagyon régen ismert emlős májból készült kivonaton végzett kutatások eredményeként. Állatokban a ciklus működésének lényege a felesleges NH_3 megkötése és kiválasztása urea formájában. A **növényekben kicsit másképpen játszódik le** a folyamat. Első lépésben az ornitin citrulinná alakul karbamoil-foszfáttal kapcsolódva. A **növényekben**, ellentétben az állatokkal **a glutamin a N-donora a karbamoil-P-nak és nem az urea**. Ezt a folyamatot korábban már említettük az aminálás glutaminnal fejezetben. (lásd **8.2.3** fejezetet). A citrulinban három nitrogén van és **mindhárom eredete különféle**. Az α-NH_2 csoport a glutaminsav azonos helyzetű aminocsoportja volt eredetileg. A δ-aminocsoport a Glu-félaldehid transzaminálásával került be a molekulába, míg az amid nitrogénje a Gln amid nitrogénjéből ered és karbamoil-P-on át épült be. Az argininná alakuláshoz azonban szükség van még egy **negyedik, egy különös nitrogén beviteli mód**ra is, melyet korábban, az aminálás kapcsolt intermedierek útján fejezetben (**8.2.4.** fejezet) ismertettünk részletesen. A negyedik nitrogén az aszparaginból származik, s úgy épül be, hogy az Asp az **ATP energiáját felhasználva** kapcsolódik a citrulinhoz és létrejön az arginino-borostyánkősav. Ebből a molekulából **transzeliminációs reakcióval** (hasonlóan a cisztation bomlásához a metionin képződése során) fumársav hasad ki és létrejön az arginin. A folyamat **ciklussá** úgy **zárul**, hogy az **argináz enzim működésének eredményeként ornitin és urea keletkezik** és az ornitin ismét reakcióba lép a karbamoil-P-tal. Az ureát az ureáz hidrolitikusan bontja és 2 NH_3, valamint CO_2 keletkezik. Az **ammónia újra felhasználódik** a korábban ismertetett anyagcserefolyamatokban. Arginin csak úgy képződhet, ha a ciklus megszakad, azaz nincs urea képzés.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

Fentebb említettük, hogy fiziológiás körülmények között az arginin és a prolin bioszintézise egymástól független utakon zajlik, ellenben a **lebontási folyamatokban szoros a kapcsolat**. A két anyag közötti soklépéses átalakulás történhet eltérő utakon is, de ugyanazon intermediereken át is mindkét irányba, de ekkor legalább az egyik lépés kétirányú folyamatát katalizáló enzimek különböznek. (**Eltérés van** a szabályozási mechanizmusokban, a folyamatok sejten belüli lokalizációjában, a termékekben, stb.) A két molekula keletkezése és lebomlása közötti viszonyokat a **8.10. ábra** mutatja vázlatosan. A szintetikus folyamatokat vékony, a lebontási folyamatokat vastag nyilak jelzik.



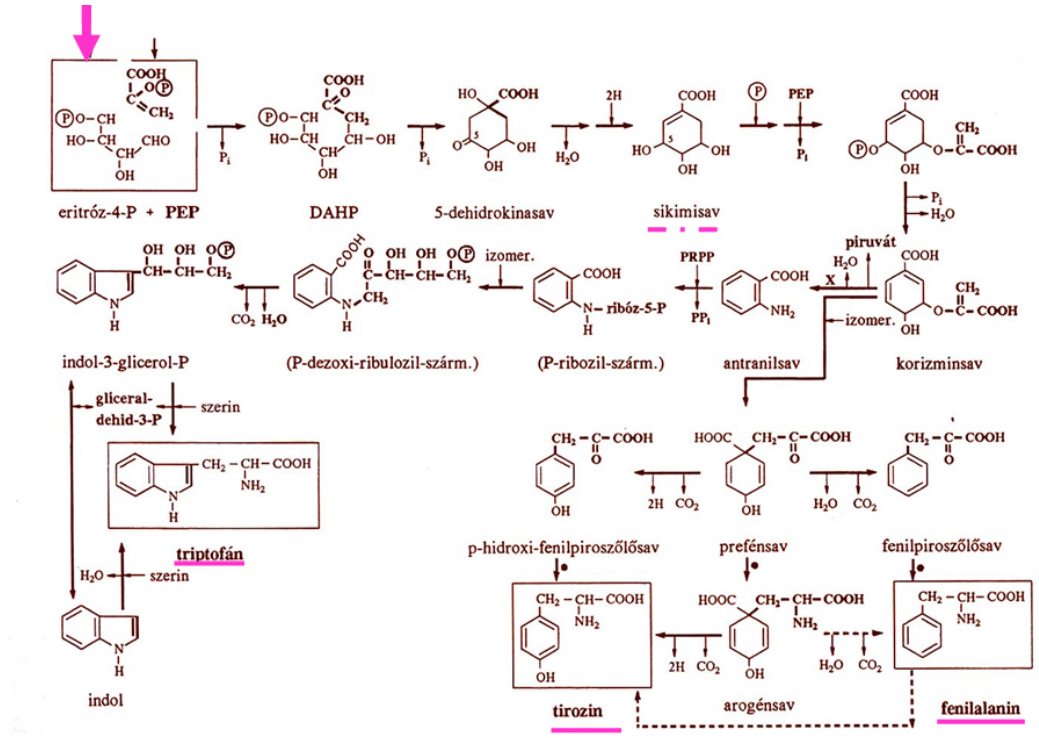
8.10. ábra Az arginin és prolin aminosavak képződése anabolikus, ill. egymásba alakulása katabolikus folyamatokban.

A **lizin képződésnek** a főként gombákban végbemenő α-amino-adipinsav (AAA) útjának első lépése az α-ketoglutársav szénláncának meghosszabbítása a C_1-lánchosszabbítási mechanizmus néven megismert folyamat során. Ennek, a leucin bioszintézisénél megismert 5 lépéses reakciósornak az eredményeként keletkezik az α-keto-adipinsav. Ebből több lépésen keresztül, pl. transzaminálás kialakul az AAA-félaldehid. A nitrogén bevitel hasonló módon történik, mint az arginin szintézis utolsó lépésben, csak itt nem Asp, hanem Glu a N-donor. Az így keletkezett szaharopinból kihasad az α-ketoglutársav és kialakul a lizin. Ismételten **hangsúlyozni kell**, hogy ez az út elsősorban a **gombákban** figyelhető meg és nem a növényekben.

8.4.5. Az aromás aminosavak bioszintézise

Ebbe a családba **három aminosav tartozik**, a fenilalanin, a triptofán és a tirozin. Képződésük közös úton indul el, majd az utolsó közös molekula a korizminsav után szétválik egyrészt a Phe és Tyr, másrészt a Trp felé (**8.11. ábra**).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



8.11. ábra Az aromás aminosavak képződésének reakcióútjai.

A közös út, valamint a **Phe - Tyr út** jelentőségét az adja, hogy az aminosav képződésén túl ez az **aromás vegyületek képződésének általános útja a növényekben**. Sok általánosan elterjedt és ennek sokszorosát kitevő, hatalmas változatosságot mutató, speciális vegyületek képzéséhez vezet. A közös út két molekulából indul ki, a négy szénatom számú cukorfoszfátból, az eritróz-4-P-ból, mely a **Calvin ciklus**, ill. a **pentózfoszfát ciklusból** egyaránt származhat, valamint a PEP-ből, mely az említett folyamatokon kívül a glikolízisből is származhat. A két vegyület egy lineáris C_7-származékká kondenzál intermedieren át. Ez a molekula a továbbiakban egy hattagú gyűrűvé zárul, az 5-dehidro-kinasavvá. A további átalakulását nem részletezve az egész anyagcsereút egyik legjellegzetesebb tagja képződik, a **sikimisav**. (Ezt az utat sokszor **sikimisav útnak is nevezik**). Foszforilálás után egy újabb molekula PEP lép be a reakcióútba, de itt nem C – C, hanem C – O kötés kialakításában vesz részt. Ebből a vegyületből képződik a közös út utolsó molekulája a **korizminsav**. A korizminsavban a keletkezés során bekövetkező foszforsav-elimináció eredményeként már **két kettőskötés van a gyűrűben**. A korizminsav egy ciklohexadién-származék. A korizminsavból még hiányzik egy kettőskötés, de már jelen van a C_3-oldallánc váza, ha nem is a végleges helyén és nem C – C, hanem C – O kötéssel kapcsolódva. A gyűrű két szubsztituensében a Tyr képződéshez egynek, a Phe képződéshez kettőnek el kell távoznia és be kell épülnie az aminocsoportnak. A következő lépés a **prefénsav** keletkezése egy szintáznak mondott enzim segítségével. Az aromás gyűrű ebből a vegyületből **tirozin esetében dehidrogénezéssel** alakul ki az –OH csoportot megtartva, míg a **fenilalanin esetében dehidratációval**. Evvel párhuzamosan a dekarboxilezés is megtörténik, s az aminosavakhoz már csak az aminocsoport hiányzik. Ennek bevitele transzaminálással történik. Egy másik lehetőség a Phe és Tyr keletkezéséhez **prefénsavból, ha az előbb transzaminálódik** és létrejön az arogénsav, majd ebből alakul ki dehidrogénezéssel, dehidratációval és dekarboxilációval a két aminosav. A **két út egymás mellett létezhet**, de pl. **kukoricában és dohányban a Tyr csak az arogenát úton képződik**.

Fontos kérdés még a két aminosav egymásba való átalakulása, pontosabban a Phe → Tyr átalakulás. Mivel emlősökben a Tyr kizárólag ezen az úton keresztül keletkezik, így a Tyr nem számít esszenciális aminosavnak *de novo* képződésének hiánya ellenére sem. A fenilalanin hidroxilezése, aminek eredményeként Tyr keletkezik, lényegében katabolikus reakció, a Phe lebomlásának első lépése. A májban meg is találták ezt az enzimet, de növényekben nem egyértelmű a megléte. Ez alapján kijelenthetjük, hogy a **Phe → Tyr átalakulás**t ha nem is zárhatjuk ki egyértelműen a növényekben, de **a növények többségében minden bizonnyal hiányzik**, vagy jelentősége valószínűleg nagyon csekély.

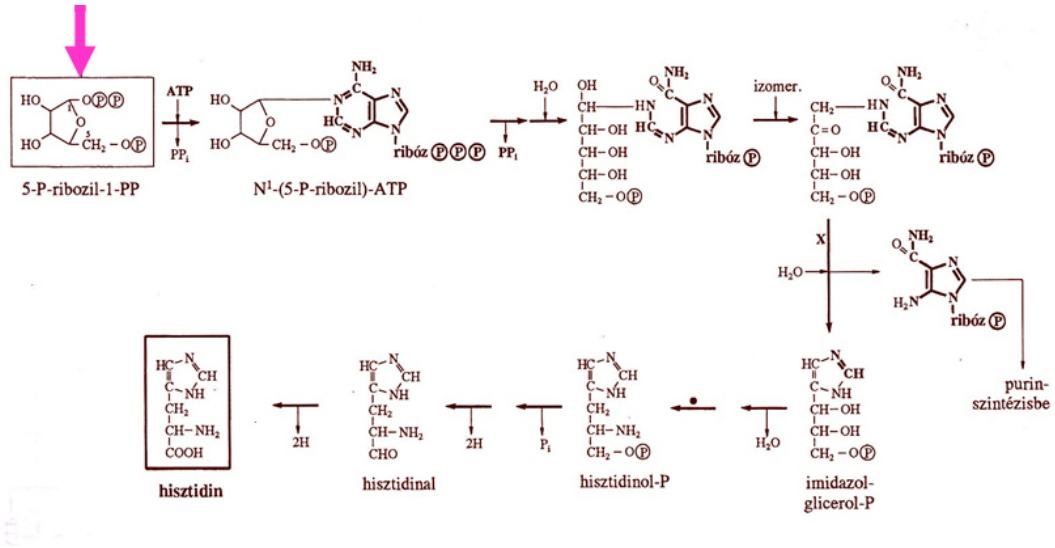
A **harmadik aromás aminosav** a triptofán szintézisének saját útja a korizminsavtól ágazik el. Ebből a vegyületből igen összetett mechanizmusokon keresztül történik az antranilsav szintézise szintáz enzim hatására. Az antranilsav

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

kapcsolódik a foszfo-ribozil-pirofoszfáttal (PRPP), ami ribóz-5-P-ból képződik ATP-vel való reakcióban. **Több lépéses reakcióban** (pl. belső redoxreakció, dekarboxileződés) **kialakul az öttagú N-heterociklus** az antranilsav benzolgyűrűjéhez kapcsolódva. A ribóz 3'-4'-5' szénatomjai oldalláncként kapcsolódnak az indolgyűrűhöz. Ez a vegyület az **indol-3-glicerol-P**. A triptofán képződés utolsó lépésében résztvevő **multienzim** egyik alegysége eltávolítja a C_3-oldalláncot, és a keletkező indol C^3-jához a másik alegység **hozzáköt egy szerin aminosavat** Schiff-bázisként. Ez a folyamat úgy is végbemehet, hogy a két alegység egyszerre működik és a szerin közvetlenül kapcsolódik az indol-3-glicerol-P-hoz és csak utána történik meg a szétbomlás glicerinaldehiddé és triptofánná.

8.4.6. A hisztidin aminosav szintézise

Az egytagú „aminosavcsalád" szintézise igen különleges reakcióutakat tartalmaz (**8.12. ábra**). Részletes ismertetésétől el is tekintünk. A hisztidin bioszintézise több helyen kapcsolódik a purin anyagcseréhez is.



8.12. ábra A hisztidin aminosav képződésének reakcióútja.

A kiindulási molekula a **PRPP ATP felhasználásával képződik** a ribóz-5-P-ból, de egyben **kiindulási vegyülete az ATP bioszintézisnek is**. A PRPP az első lépésben egy ATP-vel kapcsolódik, de itt az **ATP nem foszfordonorként szerepel**. A reakció későbbi szakaszában az ATP elbomlik, s a kihasadó kis fragmentum beépül a hisztidinbe. Az **ATP „maradéka" nem vész el, hanem be-, ill. visszakapcsolódik a purin-bioszintézisbe**. A folyamat során lejátszódik egy olyan transzaminálás is, amit aminálás glutaminnal (**8.2.3.** fejezet) nevezünk, s közben **kialakul az imidazol gyűrű**, ill. az imidazol-glicerol-P nevű molekula. Ennek a szerkezetnek (**heterociklusos molekula**, valamint glicerol-P) a kialakulása nagyfokú hasonlóságot mutat a Trp és a His képződésében. A hisztidin bioszintézisének következő lépéseiben a ribóz eredetű oldallánc végig megmarad, s addig módosul, míg ugyanazzá az oldalláncca nem válik, amit a **triptofán készen kap a szerinből**. Az átalakulás egyik lépésében transzaminálás is történik.

8.5. Az aminosav-bioszintézis szabályozása

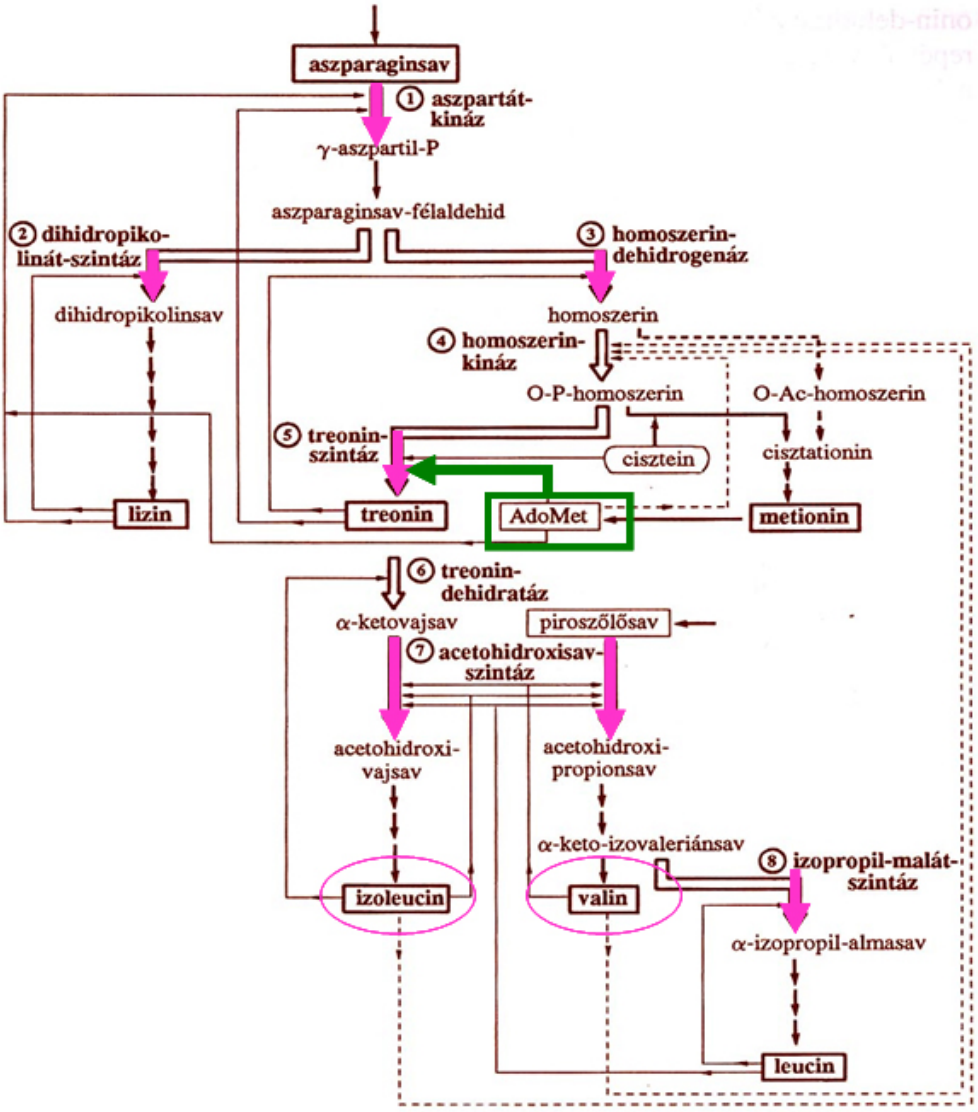
A húsz proteinogén aminosavat bioszintetikus rokonságuk alapján hat családba soroljuk. Az egy családba tartozó **aminosavak képződését közös, összehangolt, egybekapcsolódó mechanizmus szabályozza**. A **biogenetikai rokonság** az alapja a szabályozásnak, vagyis az azonos kezdő reakció és az elágazási pontok utáni reakciók enzimei, melyek a szabályozás helyei.

A növények aminosavanyagcsere szabályozásával kapcsolatos kutatások az 1960-as évek végén kezdődtek. A baktériumokra jellemző **enzim represszios szabályozásokat nem találtak**, melynek az lehet az oka, hogy a növényekben a fehérje szintézis - lebomlás (ellentétben a baktériumokkal) folyamatos, s ez az aminosav-képződés szintjének egy adott értéken való tartását igényli. Erre **a represszió – indukció típusú szabályozás nem elég finom és nem elég gyors**. Sokkal megfelelőbb helyette, ilyen viszonyok között az enzimaktivitás szabályozása a végtermék által (feedback), ami gyors és sokkal finomabb. A **feedback mechanizmusok** nem csak a bioszintetikus

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

utak megnyitására és elzárására **alkalmasak**, hanem **a végtermékek közötti egyensúly fenntartására is**. A jól ismert feedback gátlás mellet a **kooperatív gátlás és a pozitív visszacsatolás is megfigyelhető**. Ezen túl nem szabad elfelejtkezni arról sem, hogy a **különböző életkorú sejtekben a szabályozás eltér egymástól, ill. az eltérő funkciójú sejtekben is különböző lehet**. A soksejtű **növényekben az anyagcsere szabályozása a tér és az idő függvénye**.

Az egyes aminosavcsaládokon belüli szabályozást **nem ismertetjük külön-külön**, hanem **kiemelünk egyet**, s az abban előforduló mechanizmusokat tekintjük át. Az alábbiakban a legnépesebb számú család az aszparaginsav család aminosavain keresztül mutatjuk be a bioszintetikus utak szabályozásának finomságait. A hattagú családhoz szorosan **kapcsolódik** továbbá **a két elágazó láncú aminosav (Ile, Val) szintézisének szabályozása is**, a közös enzimek révén. Ennek eredményeként a **8.13. ábrán** 8 aminosav szabályozásának vázlatát mutatjuk be. A vastag vonalak, ill. nyilak az anyagcsere utakat, kettőzött üres nyilak a szabályozásban résztvevő enzimek reakcióit jelzik. A szabályozó enzimeket bekarikázott számok jelölik. Az **AdoMet-ből kiinduló vastag zöld nyíl az egyetlen serkentést**, az összes többi vékony nyíl gátlást jelent. A szaggatott nyíl a borsóban kimutatott külön bioszintetikus utat jelzi vastag vonallal, míg a gátlását vékonnyal.



8.13. ábra Az aminosavak képződéséhez vezető bioszintetikus utak szabályozása az aszparaginsav családban, valamint a hozzá kapcsolódó két elágazó láncú aminosav esetében.

Az aszparaginsav család és a két kapcsolódó aminosav bioszintézisét legalább **nyolc helyen szabályozzák a termékek**. Az Asp család bioszintézisében az első enzimatikus lépést az **aszpartát-kinázt** a Lys és a Thr gátolja. A metionin ugyan nem, de az **AdoMet és a Lys közötti szinergikus kölcsönhatás ismert**. A Lys gátolja továbbá

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

a szintéziséhez vezető út első enzimjét is. Ha nem a lizin, hanem a másik irányba való elágazást vizsgáljuk azt látjuk, hogy ez a **3-as számú enzim három aminosav keletkezése irányába indítja el a szintetikus utakat, de csak a Thr gátolja működését**. A borsóban a következő enzimet a homoszerin-kinázt az Ile, a Val és az AdoMet is gátolja. Érdekes módon **nem a Met jelenti itt a végterméket a szabályozás szempontjából**, ami gátolná az enzim működését, **hanem az AdoMet**. Ez persze nem is annyira meglepő annak tudatában, hogy a metionin metabolizmusa alapjában véve az aktivált vegyületből, az AdoMet-ből indul ki. A következő, az ötödik enzimet, **a treonin-szintázt az AdoMet serkenti**, s mint ilyen folyamat ez az **egyetlen** az egész Asp család szabályozási rendszerében. A **hatodik enzim** nem tipikus elágazási pontban fejti ki működését, de szabályozó szerepe úgy értelmezhető, hogy egyrészt a **treoninnak a fehérjékbe történő beépülése és az Ile képződés felé jelent elágazási pontot**. Evvel magyarázható az Ile gátló hatása az enzim működésére. Az Asp és a piruvát aminosavcsalád közötti biokémiai kapcsolatot **az elágazó aminosavak szintézisének első lépését katalizáló 7-es számú enzim jelenti**. Eltérő mértékben, de **mindhárom aminosav**, mint végtermék **gátolja működését**. A leucin szakasz egyetlen enzimjét (8-as jelű) a Leu természetes módon gátolja. A **8.12. ábrán** bemutatott erősen egyszerűsített séma a szabályozási kapcsolatoknak mintegy lehetséges módját mutatja be. Természetes módon nem tartalmazza az adott aminosavakra vonatkozó minden ismeretünket. Mindössze a **legáltalánosabb szabályozási módokat mutatja meg**. Nem tartalmazza azokat az ismereteket például, amiket az **eltérő érzékenységű izoenzimek jelentenek a szabályozásban**, ami ráadásul nem csak fajonkénti eltéréseket mutatnak, de ugyanabban a fajban is **jelentősen eltérhetneka fejlődési állapottól függően**.

8.6. Az aminosavak átalakulása növényekben

A **növények fő nitrogéntranszport formái az aminodikarbonsavak és amidjaik** (Asp, Asn, Glu, Gln) és **az arginin**. A különböző **stresszhatások** jelentősen be**folyásolják az aminosavanyagcserét**. A só-, a víz- és a hidegstressz **elsősorban a prolin felhalmozódását** eredményezi, de ezen túl **aminosav származékok** (glicin-betain, β-alanin, és betainja, stb.) **felhalmozódását is** több esetben elírták.

Fontos kérdés az aminosavanyagcserében a fehérjék **lebomlásából** származó aminosavak **újrafelhasználódása** fehérjeszintézisre. A **növényekben nem egyértelmű a helyzet** az állatokkal szemben. A fehérje **lebomlása** olyan sejtekben is folyik, melyekben a fehérjék mennyisége is **csökken,** lásd **csírázó magvak raktározó szövetei**, de **keletkeznek** szabad aminosavak a **fehérjék általános lebomlása - újrapótlása** (turnovere) **során is**. Valószínűleg **kétféle aminosav raktár** létezik a sejten belül. Egy a **bioszintézisből származó** és a **fehérje-prekurzor aminosavak** számára, valamint egy másik a **fehérjelebontásból származó**k részére. A kétféle raktár szerepére egy **kiváló példa** a Glu – Pro – Orn – Arg képződési útjaival kapcsolatban láttuk korábban (**8.9. ábra**). Érdekes kérdés, hogy a kétféle raktár, a „lebontási" és a „prekurzor" között **milyen arányban jutnak át az aminosavak egyikből a másikba**. Valószínűleg **jelentős eltérés van egyes aminosavak esetében, de növényfajtól, fiziológiai állapottól, sőt még sejttípustól függően is**.

Következő kérdés, hogy milyen szerepe van a lebomlásból származó, ill *de novo* szintetizálódó aminosavaknak a légzésben. Állatokban jól ismert, hogy az aminosavak a légzés szubsztrátjai. A katabolizmus végtermékei alapján úgy **csoportosítják az aminosavakat**, hogy a lebontásuk a piruvát, az acetil-CoA, vagy a Szent-Györgyi-Krebs-ciklus mely intermedierjén keresztül megy végbe. Az nem kérdéses, hogy **a növények** is lélegeznek aminosavakat, de általában azt mondhatjuk, hogy **fiziológiás feltételek között** az **aminosavak** részvétele a **légzésben elhanyagolható**, s csak különlegesen szélsőséges viszonyok között lehet számottevő.

Az aminosavak katabolizmusa a növényekben, a fentiek ellenére fontos folyamat. A lebontási folyamatok során keletkező **intermedierek biztosítják egyes molekulák bioszintézisének a prekurzorait**. A lebontás kezdeti lépéseiben keletkező molekulákra igaz ez a megállapítás elsősorban. Az aminosav lebontás kezdeti lépésének egyike a **dekarboxileződés**, ill. a másik az aminocsoport elvesztése (**dezaminálás**), vagy lecserélődése (**transzaminálás**). Ennek során a molekula elveszíti az általánosan jellemző funkciós csoportjait.

A **dekarboxileződés** során aminok, ill. diaminok jönnek létre, pl. a triptofánból triptamin, az ornitinből putreszcin, az aszparaginból β-alanin (pl. stressz esetén).

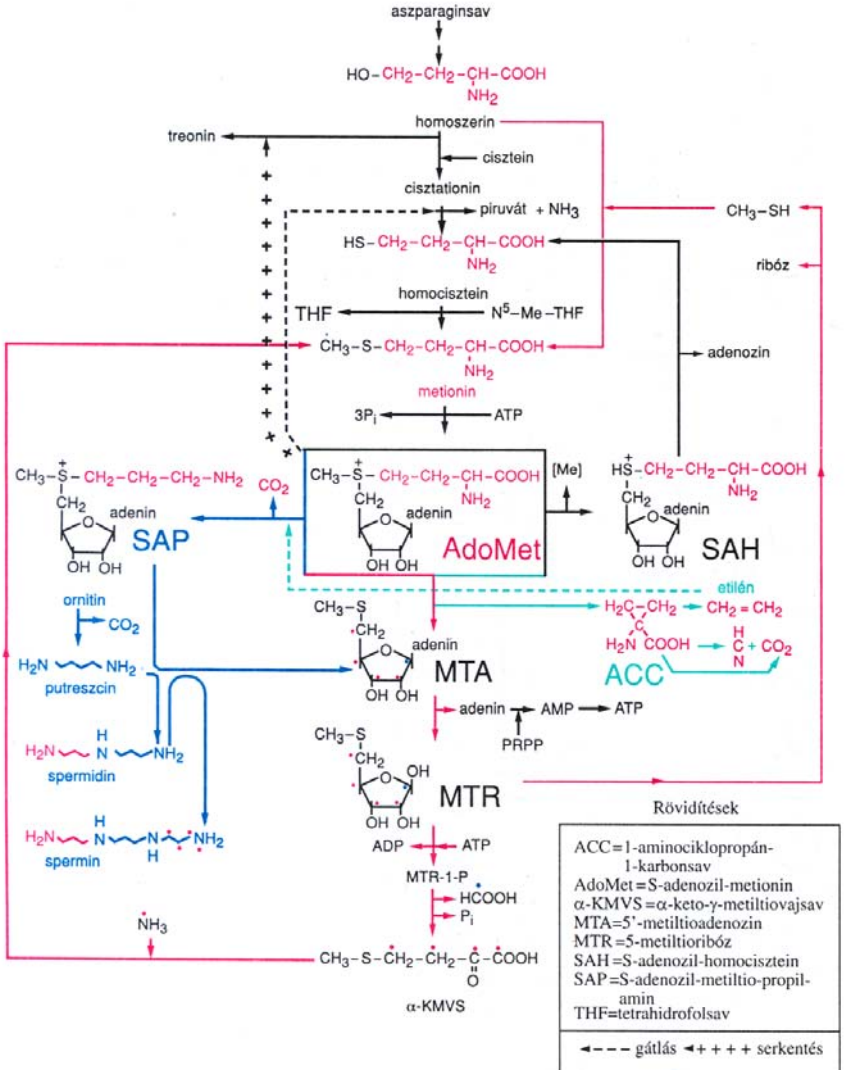
Az **oxidatív dezaminálás** aminosav dehidrogenázok jelenlétében történik, ami a reduktív aminálási reakció fordított irányú lefolyása. Szintetikus irányú működésüket az NH_3 primer asszimilációjakor ismertettük (**8.2.1.** fejezet). Az **aminosav oxidázok**, az igen elterjedt flavoproteinek, melyek működése eredményeként α-ketosav + ammónia + hidrogénperoxid keletkezik, a **növényekből valószínűleg hiányoznak**.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A **transzaminálás** fordított esetben az aminosavakból α-ketosavat hoz létre ugyan, de az akceptor molekulából aminosavat, így ez a reakció nem tekinthető igazi aminosav lebontásnak reverzibilitása miatt. Inkább csak időszakos funkció módosulás az anyagcsere során.

A **triptofánnak indolecetsav képződéssel** összefüggő „részleges" lebomlását, ill. speciális átalakulását ismerjük. Bizonyos aminosavak **növényekre jellemző módon** bomlanak le, mint a metionin és a cisztein.

A **metionin lebomlását** az AdoMet lebomlásával érdemes bemutatni, mivel a Met az anyagcserében valójában AdoMet-ként vesz részt (**8.14. ábra**). Az **AdoMet** legfontosabb funkciója a **transzmetilezésben** való részvétel, hiszen ez a vegyület az **általános metildonor**. A demetileződés után keletkező S-adenozil-homocisztein egyetlen ismert átalakulása a homociszteinre és adenozinra való bomlása. A **homocisztein visszatérhet a szintetikus útra** az adenozin adeninné alakulhat. Mint korábban is elmondtuk **az AdoMet szabályozza** az Asp aminosavcsalád aminosavainak **képződését**, így a **metioninét** is.



8.14. ábra A metionin (AdoMet) részvétele az univerzális anyagcserefolyamatokban.

Az **etilén bioszintézise** is az AdoMet-ből történik úgy, hogy gyűrű képződés során 1-amino-ciklopropán-1-karbonsac (ACC) keletkezik. Ebből (ACC) jön létre az etilén CO_2 és HCN keletkezése mellett.

Az AdoMet bekapcsolódik **a poliaminok bioszintézisébe is**. A **poliaminok** a növényekben kapcsolatban vannak az **öregedéssel** úgy, hogy öregedéskor a szövetekben koncentrációjuk **lecsökken**. A putreszcin spermidin és a spermidin spermin átalakulásokhoz **a propil-amin csoport az AdoMet-ből származik**, pontosabban a belőle dekarboxilezéssel keletkező S-adenozil-metiltio-propilaminból (SAP).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A fenti és az eggyel korábban említett reakciókban az **AdoMet „visszamaradó" része** az 5'-metiltio-adenozin (MTA) **nem vész el**, hanem felhasználódik metionin újraképzéséhez. Először az adenin csoport lehasad, ami megfelelő reakció utakon ATP-vé alakulhat vissza, s keletkezik az 5-metiltrio-ribóz (**MTR**). Ez a molekula képes azután **visszaalakulni metioninná**.

Az utóbbi három lépés összekapcsolódásával kialakuló ciklusban új metionin nem képződik, csak visszaalakul. Egy ciklus során egy ATP használódik fel, ami belép a Met → AdoMet átalakulásba. (Az MTR-t foszforilező ATP nem számít bele, mivel csak a foszfátját adja át). Az **ATP-ből adenin** + PPi + Pi lesz, s a **ribóz részből etilén keletkezik**, vagy propilaminként poliaminba épül be.

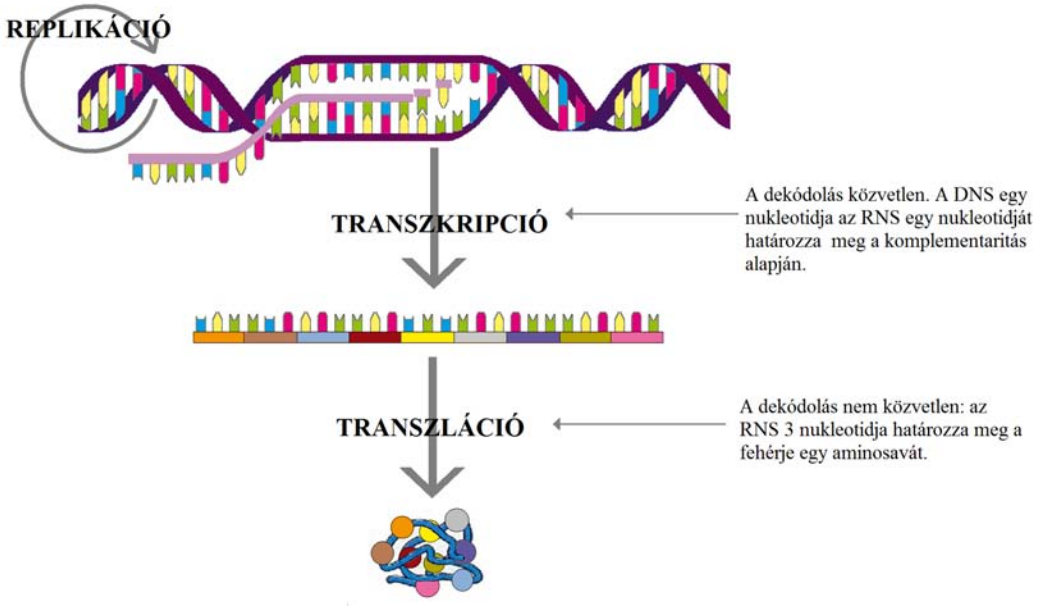
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

9. fejezet - A fehérje-anyagcsere speciális növényi folyamatai

szerző: Dr. Rácz Ilona

9.1. Bevezetés

Az élő szervezetek felépítésében és működésében alapvetően fontos szerepet játszó makromolekulák, a fehérjék, egységesen húszféle aminosavból épülnek fel. Az aminosavak sorrendjének információját a DNS meghatározott szakaszainak, a fehérjét kódoló géneknek a nukleotidszekvenciája hordozza. A genetikai információ a DNS-ről a transzkripció folyamatában a messenger RNS-re adódik át. A **genetikai információ lefordítása**, transzlációja, az **mRNS négybetűs nyelvéről a fehérjék húszbetűs nyelvére a fehérjeszintézis** folyamatában történik. A transzláció a transzkripciónál bonyolultabb folyamat, mivel a transzkripció során a specifitást a nukleinsavak komplementer bázisai között kialakuló Watson–Crick-párok biztosítják, vagyis egy bázis egy másik bázist határoz meg. A fehérjeszintézis esetében az mRNS bázis sorrendje a fehérje aminosav sorrendjét határozza meg, vagyis a négy féle bázis húsz féle aminosav elhelyezkedését szabja meg a fehérje molekulában (9.1. ábra).



9.1. ábra Az információátadás folyamata a génexpresszió során

Hogyan határozza meg a DNS (ill. annak meghatározott szakaszairól szintetizálódott mRNS) bázissorrendje a fehérje aminosavainak sorrendjét? A húszféle aminosav **kód**olásához legalább **3 nukleotidból álló szekvenciá**kat (tripletteket) kellett feltételezni elméleti alapon. Így a lehetséges kombinációk száma 4^3 = 64-nek adódott. A nukleinsavak és az aminosavak kémiai tulajdonságainak ismeretében nehéz volt elképzelni olyan kölcsönhatást a triplett és az aminosav között, mely lehetővé tenné az egyes aminosavak megkülönböztetését. Ezért Crick olyan „adaptor” molekulákat (legalább háromtagú oligonukleotidokat) tételezett fel, melyek az mRNS kodonjaihoz a nukleinsavakra jellemző bázispárképzés révén kötődnek, ugyanakkor aminosavat is kötnek. Ezek a ma tRNS-ként ismert kis molekulatömegű RNS-ek antikodonjukon át valóban komplementer Watson–Crick-bázispárokat alkotva kötődnek az mRNS kodonjaival, 3’ végükhöz pedig aminosavak kapcsolódnak.

A fehérjék szintézisében makromolekulák százai (tRNS-ek, aminoacil-tRNS-szintetázok, mRNS-ek, oldható fehérje faktorok és riboszómák) vesznek részt, melyek összehangolt működése teszi lehetővé, hogy a folyamat igen nagy pontossággal végbemenjen.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

9.2. A genetikai kód megfejtése, jellemzői

A hatvanas évek elején különbözö módszerekkel sikerült megállapítani, hogy a 64 lehetséges triplett közül melyik aminosavat melyik kodon határozza meg. A lehetséges 64 kodonból 61-et aminosavat meghatározó kodonnak találtak. A maradék 3, az **UAA** *(ochre),* **UAG** *(amber)* és az **UGA** *(opal)* a fehérjére vonatkozó információ végét jelölő **stop kodonnak** vagy terminátor kodonnak bizonyult. Mivel a 64 triplett mindegyikének jelentését azonosították és a szintetikus polinukleotidok *in vitro* transzlációjához nem volt szükség különleges kezdő kodonra, kezdetben nem tételezték fel, hogy mindegyik fehérje génje azonos iniciátor kodonnal kezdődik. 1964-ben fedezte fel Marcker és Sanger, hogy az *E. coli* metionil-tRNS-e formilálható a metionin aminocsoportján és a fehérjék mintegy 45%-ának az N-terminálisán metionin található. Ekkor merült fel annak a gondolata, hogy valamennyi fehérje *in vivo* **AUG metionin iniciátor kodonnal** kezdődik. Sejtmentes fehérjeszintetizáló rendszerben, melyből hiányoztak a fehérjék végleges szerkezetét kialakító érési enzimek, a feltételezést igazolni lehetett.

Mivel egy adott aminosavat általában nem egy, hanem több kodon határoz meg, a **genetikai kód degenerált**. Az azonos aminosavat kódoló triplettek azonban nem véletlenszerűen oszlanak meg; rendszerint az 5’ és a középső bázisuk megegyezik. Ez növeli a fehérjék stabilitását, ugyanis a 3’ pozícióban bekövetkező mutáció gyakran olyan változáshoz vezet, hogy a kodon még mindig ugyanazt az aminosavat kódolja. Hasonló kodonúak a kémiailag azonos (savas, bázikus, hidrofil, hidrofób) csoportba tartozó aminosavak is. Például bármely leucin kodon 5’ bázisának mutációja olyan változást idéz elő, melynek eredménye egy másik hidrofób aminosav kodonja.

A **genetikai kód** minden élőlényben azonos, **univerzális.** Az organellumok genomjának és fehérjeszintetizáló rendszerének, valamint speciális fehérjék szintézisének tanulmányozása alapján azonban néhány eltérő kodonhasználatra is fény derült (ld. később).

9.3. A riboszómák felépítése és funkciója

A fehérjék szintézise a sejtekben a riboszómákon történik, melyek minden élő szervezet citoplazmájában és autonóm organellumaiban megtalálhatók. A növényi sejtek három különböző riboszóma készlettel és transzlációs apparátussal (citoplazmás, kloroplasztisz, mitokondrium) rendelkeznek. A kloroplasztisz és mitokondriális riboszómákon kizárólag az adott organellum genomja által kódolt fehérjék szintetizálódnak. Különösen a plasztiszok járulnak hozzá jelentősen a sejt összfehérje-tömegének szintéziséhez; a levelekben akár az 50%-ot is elérheti a plasztiszban szintetizálódott fehérjék aránya, melyek előállításában az összes riboszómakészlet mintegy 25%-át kitevő kloroplasztisz riboszómák vesznek részt. Mivel a fehérjeszintézis folyamatai is alapvetően azonosak az élővilágban, nem meglepő, hogy a riboszómák és az őket felépítő makromolekulák is keveset változtak az evolúció során.

A **riboszómák** viszonylag nagy, 25–30 nm átmérőjű, **két alegységből álló részecskék**, melyek a riboszóma működése során egymástól szétválnak, illetve újra asszociálnak. A riboszómákat szedimentációs együtthatójukkal jellemezzük. A **kloroplasztiszban és a mitokondriumban 70S prokarióta típusú, a citoplazmában 80S** szedimentációs együtthatójú **eukarióta típusú riboszómák** találhatók. A riboszómák **nukleinsavakból és fehérjékből** állnak. A kis alegység egyféle RNS-t tartalmaz az organellumokban (16S) és a citoplazmában (18S) egyaránt. A nagy alegység 23S és 5S RNS-t tartalmaz az organellumokban, 26SS, 5S és 5,8S RNS-t a citoplazmában. Kloroplasztiszok nagy riboszomális alegységében magasabb rendű növényeknél 4,5S RNS is található. A riboszomális fehérjék (r-fehérjék) többnyire kis, bázikus proteinek, számuk 20-30 közötti alegységenként és általában egy kópiában vannak jelen (kivéve a nagy alegység l7/L12 fehérjéjét, melynek kópiaszáma 4db/nagy alegység). Az organellumok fehérjéinek száma 2-4-el nagyobb, mint a prokarióta őseiké.

A riboszómák alakja szabálytalan, aszimmetrikus, de az organelláris és citoplazmás riboszómák egymáshoz hasonlók. A kisebbik alegység egy kisebb fejre és egy nagyobb alapra különíthető. Az alapból nyúlik ki a nagy alegység felé eső felszínen egy perem, mely árkot formál a fej és az alap között. Ide kapcsolódik a transzláció során az mRNS, melynek kodonjaihoz kötődnek antikodon végükkel a tRNSek. A nagy riboszomális alegységen egy centrális protuberancia található, mellyel kb. 50^{o}-os szöget bezárva mindkét oldalon egy-egy nyúlvány van. Az összekapcsolódott riboszómában a kis alegység úgy helyezkedik el a nagy alegységen, hogy a perem és a nagy alegység felszínén, a központi kidudorodás alatt található árok együttesen jelentős bemélyedést, egy *interface canyon*t alkotnak. Itt helyezkednek el az aminosavat hordozó, a peptidet tartó, valamint a dezacilált tRNS-ek, aminosavukkal, peptidjükkel, vagy dezacilált 3' végükkel a nagy alagység felé orientáltan. Az *interface canyon* alján, a nagy alegységen egy alagút bejárata található. Ezen át jutnak ki a polipeptidek a riboszóma belsejéből, a fehérjeszintézis helyszínéről.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Funkcionálisan a riboszómák polimerázok; a DNS és RNS polimerázokhoz hasonlóan biopolimereket szintetizálnak. **Szubsztrátként aminoacil-tRNSeket felhasználva mRNS templátról aminosavakból álló polimer termékeket (fehérjéket) készítenek**.

A riboszómák funkcionális aktivitásáért a riboszomális RNS-ek felelősek, melyek részt vesznek az mRNS-ek kiválasztásában és megkötésében, a tRNS-ek megkötésében, az alegységek asszociációjában, a hibásan bekötődött tRNS-ek felismerésében és a hibajavításban, a peptid kötés kialakításában valamint a folyamatban résztvevő fehérje faktorok megkötésében. A riboszomális fehérjék ugyanakkor önálló katalítikus aktivitással nem rendelkeznek. Stuktúrális szerepük a riboszomális RNS-ek optimális konformációjának biztosítása.

9.4. Az aminoacilálás

Ahhoz, hogy a tRNS-molekula betölthesse adaptor funkcióját, vagyis antikodonjának komplementaritása révén az mRNS kodonjának megfelelő aminosavat szállítsa a riboszómán történő fehérjeszintézishez, előbb kapcsolódnia kell saját aminosavával. Ez a reakció az aminoacilálás, amelynek során az aminosav egyben energiadús állapotba is kerül. Az aminoacil-tRNS-ek kialakításáért felelős enzimeket **aminoacil-tRNS szintetázoknak** (vagy aminosav tRNS ligázoknak) nevezik. A szintetázok által katalizált reakció két lépésben játszódik le. Az első lépés az aminosav aktiválása, melynek során az enzim felszínén ATP felhasználásával aminoacil-adenilát képződik:

1. Aminosav + ATP + E <===> Aminoacil-AMP-E + PPi

A második lépésben az aminosav átadódik a tRNS-re; észterkötés képződik az aminosav karboxil- és a tRNS adenozinjának 3’ vagy 2’ OH-csoportja között:

2. Aminosav-AMP-E + tRNS <===> aminoacil-tRNS + AMP + E

Az aminoacilálás nagyon jelentős a fehérjeszintézis pontossága szempontjából. A dekódolási folyamatban ugyanis az aminoacil-tRNS aminosav része nem játszik szerepet. A specifitást a tRNS antikodonja és az mRNS kodonja között kialakuló Watson–Crick-párok biztosítják, tehát ha az aminoacilálásban hiba történik, a hibás aminosav beépül a fehérjébe. Az aminoacil-tRNS szintetázok ezért nagyon specifikus enzimek. Ismeretes, hogy többféle tRNS létezik a sejtben, melyek azonos aminosavat kötnek; ezek az izoakceptor tRNS-ek. A szintetázok száma azonban az aminosavak számával egyezik meg, vagyis valamennyi izoakceptort ugyanaz a szintetáz ismeri fel. A felismerés enzim-tRNS pártól függően egyedi (idioszinkratikus felismerés) és egyes nukleotidok, vagy rövidebb szekvenciák alapján történik, melyek lehetnek azonosító elemek, vagy a felismerést kizáró antideterminánsok. A hibás beépüléseket az enzim javítani tudja mind az aminoacil-adenilát képződés, mind az aminoacil-tRNS-ek képződése során.

A magasabb rendű növények fehérjeszintézisre képes organellumai önálló szintetáz készlettel rendelkeznek, ez azonban nem mindig teljes. Előfordul, hogy pl. a glutaminsavat és glutamint, vagy az aszparaginsavat és aszparagint kötő tRNS-eket azonos szintetáz ismeri fel. Ilyenkor elsőként glutaminsavat, vagy aszparaginsavat kapcsol a glutamin/aszparagin tRNS-hez is. Az aminosavak ezt követően alakul át glutaminná vagy aszparaginná egy aminotranszferáz-enzim segítségével.

9.5. A fehérjeszintézis folyamatának áttekintése

Az aminosavat kötő tRNS kölcsönhatása az mRNS-sel a citoplazmás és organelláris riboszómákon megy végbe, ahol a kodonok által meghatározott sorrendben történik az aminosavak összekapcsolása fehérjévé. A **polipeptid lánc az N terminálistól a C terminális felé növekszik, az mRNS kodonjainak leolvasási iránya 5’ —> 3**’. Utóbbi megegyezik az mRNS lánc szintézisének irányával, így lehetséges - és az organellumokban gyakori is -, hogy az mRNS transzlálódni kezd, mielőtt szintézise befejeződne. Az mRNS kodonjainak leolvasása 3 különböző fázisban, **az iniciáció, az elongáció és a termináció** folyamatában történik, oldható **fehérjefaktorok** részvételével, melyek a nagyszámú résztvevő molekula közti kölcsönhatást segítik, illetve teszik lehetővé.

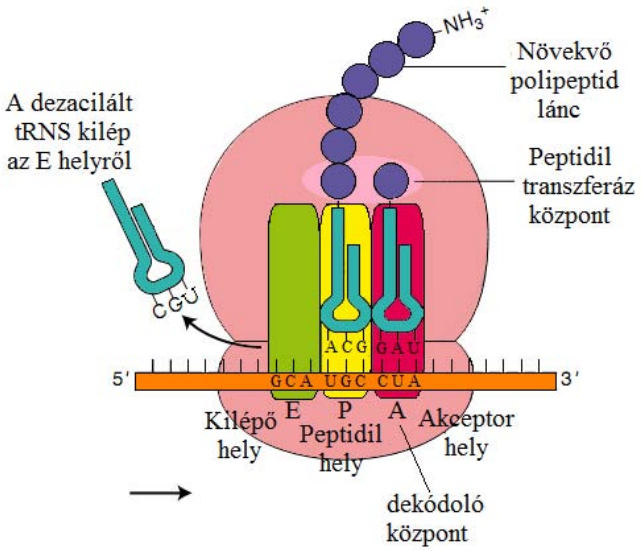
Az **iniciáció** az mRNS fehérjét meghatározó szakaszának elején a lánckezdő metionint kódoló **AUG iniciátor kodon felismerése**, majd transzlációt lehetővé tevő iniciációs komplex kialakítása. A sejt összes aminoacil-tRNS-e közül prokariótáknál csak a formilmetionil-$tRNS_f$ (fMet-$tRNS_f$), eukariótáknál pedig a metionil-$tRNS_i$ (Met-$tRNS_i$) alkalmas az iniciációban való részvételre. A folyamatban számos **iniciátor faktor** játszik szerepet, valamint

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

ATP és GTP energiája használódik fel. Az iniciáció végére kialakul a 70 S vagy 80 S iniciációs komplex, mely a két riboszomális alegységet, az mRNS-t és az mRNS-sel az antikodonján át kötődő iniciátor tRNS-t tartalmazza. Ez az un. transzláció-kompetens iniciációs komplex alkalmas arra, hogy létrejöttét követően a láncközi kodonok dekódolása, tehát az elongáció folyamata elkezdődjön.

Az **elongáció** az iniciátor triplett és a terminátor triplettek között található **kodonok leolvasása**. Olyan ismétlődő reakciók sorozata, melyek során az aminoacil-tRNS-ek az mRNS kodonjai által meghatározott sorrendben kapcsolódnak a riboszómához. **Peptid kötés** alakul ki az újonnan érkezett **aminoacil-tRNS** aminosavának **amino-** és a riboszómán lévő **peptidil-tRNS** peptidjének **karboxilcsoportja között,** így minden kodonnak megfelelően egy-egy aminosavval nő a polipeptid lánc. Az elongáció reakciói a riboszómák speciális helyein játszódnak le. A peptidkötés kialakulásakor a **belépő aminoacil-tRNS az akceptor- (A)**, **a peptidil-tRNS a peptidil (P), a dezacilált tRNS** pedig **a kilépő (E = exit) helyet foglalja el** (9.2. ábra). A peptidkötés kialakítását a riboszóma peptidil-transzferáz aktivitása katalizálja. Ezután a riboszóma elmozdul az mRNS-en a következő kodonhoz. Így a peptidil tRNS a P helyre kerül, az A hely pedig szabaddá válik és képes fogadni a következő aminosavat szállító tRNS-t. A reakciók addig ismétlődnek, míg az A helyre terminátor kodon kerül. A folyamatot **elongációs faktorok** és nagy energiájú vegyületek segítik elő.

A **termináció, a polipeptid lánc szintézisének befejezése** és a fehérje felszabadulása a poliszóma komplexből akkor történik meg, amikor a riboszóma A helyére a **terminátor triplettek (UAA, UAG, UGA)** valamelyike kerül. Ilyenkor a terminátor faktorok kötődnek GTP energiáját igénylő reakcióban az A helyre, melynek eredménye a P helyen lévő peptidil-tRNS hidrolízise és az elkészült polipeptid, valamint a dezacilált tRNS felszabadulása.



9.2. ábra A fehérjeszintézis egyszerűsített sémája. A peptidil- (vagy az iniciátor-) tRNS a P helyen, a belépő aminoacil-tRNS az A helyen található. A peptid kötés képzés a peptidil-transzferáz központban történik. A dezacilált tRNS kilépő helyen át hagyja el a riboszómát.

9.6. Prokarióta típusú transzláció a plasztiszokban és a mitokondriumokban

Bakteriális eredetüknek köszönhetően a növényi kloroplasztiszok és mitokondriumok transzlációjukat tekintve prokarióta sajátságokat mutatnak. A hoszú együttfejlődés során azonban egyedi, csak az adott organellumra jellemző sajátságok is kialakultak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

9.6 1. Az iniciáció

A fehérjelánc szintézise a **30S iniciációs komplex kialakulásával** kezdődik, melyben a prokariótákra jellemző formilmetionil-tRNS (fMet-$tRNS_f$) az mRNS iniciátor kodonjához kötődik a 30S riboszóma alegységen. Ezt követi a **70S iniciációs komplex** kialakulása, mely az 50S riboszomális alegység kötődése után jön létre. Az iniciációs komplex kialakulásához 3 iniciátor faktor, az **IF1, IF2 és IF3** jelenléte, valamint **GTP** szükséges. Mivel az mRNS több cisztront is tartalmaz, az iniciációs komplex az mRNS több iniciációs helyén egyszerre is kialakulhat. Az általános reakció a következőképpen vázolható:

$$30S+50S\ mRNS+fMet\text{-}tRNS_f \xrightarrow[IF3,\ GTP]{IF1,\ IF2} fMet\text{-}tRNS_f\text{-}70S\text{-}mRNS+GDP+P_i+IF1+IF2+IF3$$

Az organelláris iniciátor faktorok mind számukban, mind struktúrájukban és funkciójukban nagyon hasonlók a bakteriális faktorokhoz. Az iniciáció folyamata a következő szakaszokra bontható:

1. a riboszomális alegységek disszociációja,

2. az mRNS kötődése a 30S riboszomális alegységhez,

3. az iniciátor tRNS kötődése a 30S riboszomális alegységhez,

4. a 70S iniciációs komplex kialakulása.

9.6.1.1. A riboszomális alegységek disszociációja

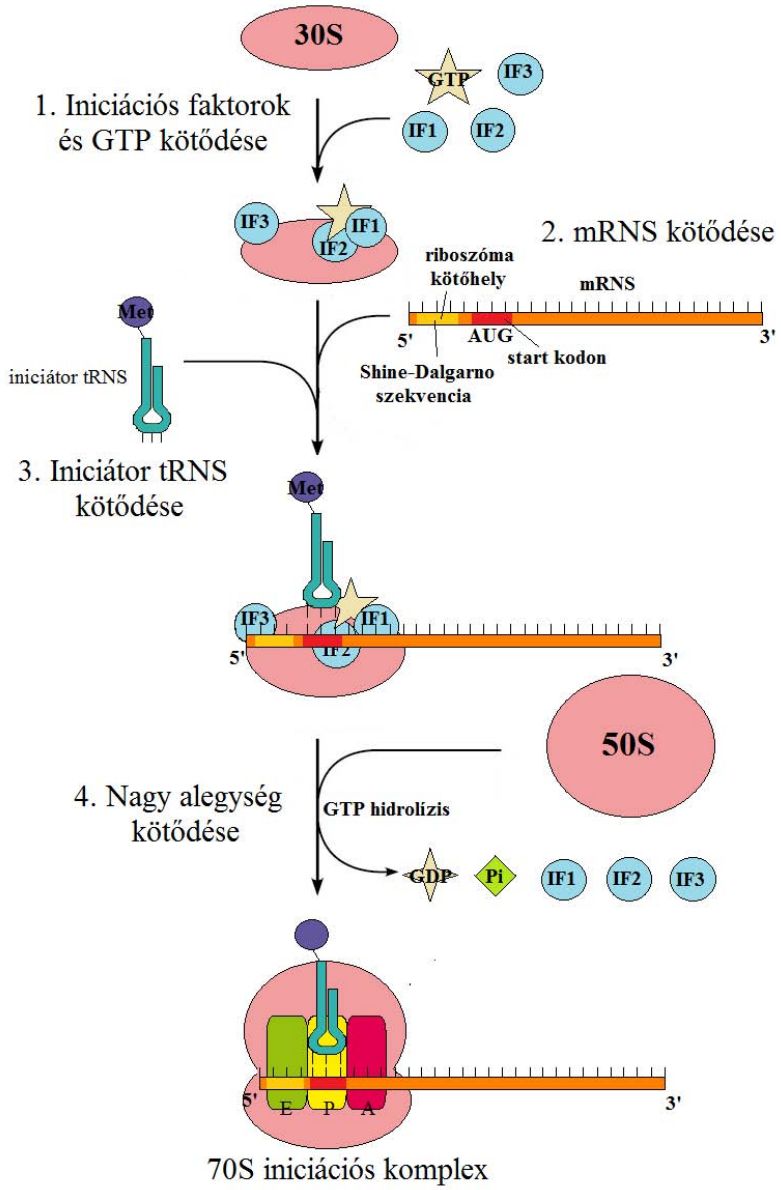
A sejtben a riboszómák zömmel 70S formában vannak jelen mivel az alegységek rRNS-e között nukleinsav-nukleinsav kölcsönhatások alakulnak ki, így a disszociáció sebessége kicsi. Az iniciáció azonban a 30 S alegységen kezdődik, tehát a riboszómáknak disszociált formában kell jelen lenniük ahhoz, hogy a fehérjeszintézisben részt vehessenek. A disszociáció az IF3 ésIF1 faktorok együttes hatásának következménye, melyek a kis alegységhez kapcsolódva a disszociáció irányába tolják el az egyensúlyt. A kis alegységhez kötődik az IF2 iniciációs faktor is GTP-vel alkotott komplex formában.

9.6.1.2. Az mRNS kötődése a 30S riboszomális alegységhez

Az mRNS kötődés feltétele, hogy előzőleg mindhárom iniciátor faktor a kis alegységhez kapcsolódjék. Az mRNS az iniciátor (AUG vagy GUG) kodonokat tartalmazó szakaszával kötődik a 30S-IF1-IF2-IF3 komplexhez. A felismerés során a riboszómának meg kell különböztetnie a láncközi AUG kodonokat a valódi iniciátor kodontól. Ezt az mRNS iniciátor kodon előtti nem transzlálódó 5’ végi részén található **AGGAGGU Shine és Dalgarno** (SD) **szekvencia**, valamint a 16S rRNS 3’ végének közelében található ACCUCCU komplementer oligonukleotid közti bázispárképzés teszi lehetővé.

Szárazföldi növények **kloroplasztisz és mitokondrium mRNS-ei többnyire tartalmazzák az SDszekvenciát**, bár annak távolsága az iniciátor kodontól változó. Ugyanakkor előfordulnak SD szekvenciával nem rendelkező mRNS-ek is az organellumokban. Ilyenkor az mRNS-ek 5’ és 3’ végén lévő, szekunder strukturális elemeket kialakítani képes mRNS szakaszok, valamint járulékos fehérjék (pl. eukarióták poliA szekvenciájához kötődő, eukariotáknál az mRNS cirkularizációját elősegítő fehérjékkel homológ) plasztiszfehérjék segítik az iniciátor AUG kodon megtalálását.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



9.3. ábra A prokarióta típusú fehérjeszintézis iniciációja

9.6.1.3. Az iniciátor tRNS kötődése a 30 S riboszomális alegységhez

Valamennyi mRNS kódoló régiója AUG, vagy GUG iniciátor kodonnal kezdődik, ennek megfelelően az iniciátor tRNS-eknek metionint kötő tRNS-eknek kell lenniük. Prokarióta (eubaktérium, kloroplasztisz és mitokondriális) transzlációs rendszerek közös sajátsága az, hogy az iniciátor metionil-tRNS aminosava az -NH_2 csoportján formilált. Az iniciátor tRNS-ek nemcsak a formilcsoport meglétében térnek el a láncközi tRNS-ektől, hanem szerkezeti sajátságaikban is, melyek lehetővé teszik, hogy az iniciációban részt vevő egyéb komponensek (iniciátor faktorok, 30S riboszóma alegység) megkülönböztessék őket a láncközi metionin tRNS-ektől.

Az iniciátor fMet-$tRNS_f$-ek riboszómához kötődését alapvetően a kodon-antikodon kölcsönhatás szabja meg; a már bekötődött mRNS iniciátor kodonjához kapcsolódnak. A felismerésben azonban az iniciátor faktoroknak és a riboszómának is szerepe van. Az IF2 – mely az aminosav formiláltságát ismeri fel - képes mind az fMet-$tRNS_f$-sel, mind a GTP-vel kapcsolódni, így IF2-fMet-$tRNS_f$-GTP hármas komplex alakul ki a riboszómán.

A 30S iniciációs komplex képződését a következő reakció írja le:

30S-IF1-IF2-IF3+GTP+mRNS+fMet-$tRNS_f$ → 30S-IF1-IF3-mRNS-IF2-fMet-$tRNS_f$-GTP

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

Mitokondriumoknál hiányozhatnak az iniciátor fMet-tRNS$_f$-ek. Az iniciáció pontos lejátszódásához a plasztiszokból szállított fMet-tRNS$_f$-ekre van szükség.

9.6.1.4. A 70S iniciációs komplex kialakulása

Amint az mRNS-t, fMet-tRNS$_f$-t, 30S riboszóma alegységet, iniciátor faktorokat és a GTP-t tartalmazó 30S iniciációs komplex kialakult, az 50S alegység képes hozzákötődni, és az IF3 faktor egyidejű felszabadulása mellett létrejön a 70S iniciációs komplex. A következő kodon által meghatározott aminoacil-tRNS kötődéséhez az kell, hogy a GTP hidrolizáljon és az iniciációs faktorok felszabaduljanak a riboszóma komplexből. A GTP hidrolíziséhez az IF2 faktor és a nagy alegység L7/L12 fehérjekomplexének kölcsönhatása szükséges

A GTP hidrolízisének energiája ahhoz a konformációváltozáshoz kell, ami a faktorok kilépését eredményezi a komplexből. Az iniciációs faktorok és a GDP leválása után alakul ki az az aktív 70S iniciációs komplex, melyben a fMet-tRNS$_f$ a P helyet foglalja el és az A hely szabad a következő aminoacil-tRNS belépéséhez. Ez a komplex képes arra, hogy az elongációs ciklusban részt vegyen.

A 70S iniciációs komplex képződését a következő reakció irja le:

$$\text{30S-IF1-IF3-mRNS-IF2-fMet-tRNS}_f\text{-GTP} + \text{50S} \longrightarrow \underset{\textit{70S iniciációs komplex}}{\text{70S-mRNS-fMet-tRNS}_f\text{+IF3+IF2+IF1+ GDP+P}_i}$$

9.6.2. A peptidlánc elongációja

A polipeptidlánc meghosszabbítása ismétlődő reakciósor eredménye, melynek minden ciklusában egy aminoacil-tRNS kötődik a riboszóma A helyéhez és reagál a P helyen lévő fMet- vagy peptidil-tRNS-sel (pep-tRNS). A peptidkötés kialakulása transzpeptidációs reakció, melynek során a P helyen lévő pep-tRNS -COOH és az A helyen lévő aminoacil-tRNS aminosavának -NH_2 csoportja között -CO-NH- kötés jön létre. A peptidkötés kialakulása után a készülő peptid átkerül az újonnan belépett tRNS-re az A helyre. Az aminosavát elvesztett, dezacilált tRNS kilépése az E helyen át, valamint a pep-tRNS áthelyezése a P helyre és ezzel az A hely ismételt felszabadítása a transzlokáció folyamatában történik meg, úgy, hogy az mRNS-hez az antikodonján át kötődő peptidil-tRNS és a riboszóma egymáshoz képest elmozdul. A transzlokáció után az üres A helyre az mRNS következő kodonja által meghatározott aminoacil-tRNS kötődik. Az aminoacil-tRNS bekötődéséhez és a peptidil-tRNS transzlokációjához elongációs faktorok (EF-Tu, EF-G), valamint GTP hidrolízisének energiája szükséges.

Az elongáció folyamatát a következő szakaszokra oszthatjuk:

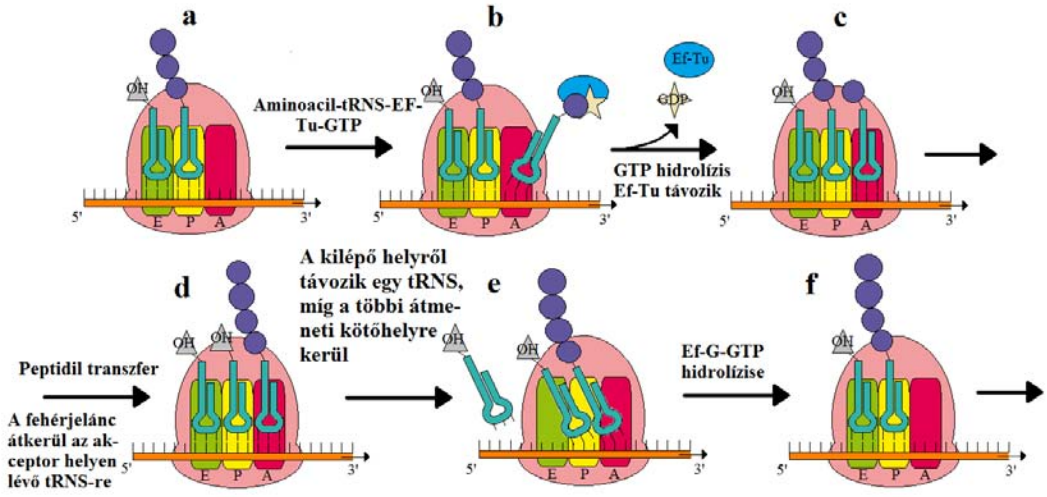
1. az aminoacil-tRNS kötődése az A helyre,

2. a peptidkötés kialakulása,

3. a transzlokáció.

Az aminoacil-tRNS bekötődése, a peptidil transzfer, a transzlokáció, valamint a dezacilált tRNS-ek kilépése során a tRNS-ek csak nagyon kis elmozdulásokat végeznek. Úgynevezett hibrid kötőhelyeket foglalnak el olyan módon, hogy vagy az antikodon, vagy az aminoacil/peptidil végükkel mindig kötődnek a kis, illetve a nagy alegységhez (9.4 ábra). Ugyanis kötőhelyek kialakításában a kis és a nagy riboszomális alegység egyaránt részt vesz; a kodon-antikodon kölcsönhatás elősegítése a kis alegység, a peptidtranszfer pedig a nagy alegység feladata. Ugyancsak a nagy alegység alagútjába irányítódik be a szintetizálódó fehérje is.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



9.4. ábra Átmeneti kötőhelyek kialakulása az elongáció során.

9.6.2.1. Az aminoacil-tRNS kötődése az A helyre

Az aminoacil-tRNS kötődéséért az EF-Tu elongációs faktor a felelős, mely hármas komplexet alkot az aminoacil-tRNS-sel és GTP-vel, majd ez a komplex kötődik a riboszómán úgy, hogy a tRNS az antikodonjával az mRNS-nek a 30S alegység A helyén elhelyezkedő kodonjához kapcsolódik. A tRNS aminosavat tartó akceptor vége egy átmeneti T (*Transitory*) helyen kötődik először (9.4. b. ábra), mivel az A hely 50S riboszómán levő részétől az EF-Tu faktor elzárja, megakadályozva a peptidkötés kialakulását és lehetővé téve egy hibajavító mechanizmust melyben elsősorban a kodon-antikodon kölcsönhatás játszik szerepet. Ha nem megfelelő aminoacil-tRNS kötődött be, akkor a kölcsönhatás nem elég erős, így a folyamat a disszociáció irányába tolódik el. Pontos kodon-antikodon kölcsönhatás esetén a komplex GTP-je hidrolizál. Az EF-Tu-GDP disszociál a riboszómáról és lehetővé válik az aminoacil-tRNS A helyre kötődése mindkét alegységen (A/A hely) (9.4. c. ábra). Az EF-Tu faktor génjét több magasabbrendű növény és *Euglena* kloroplasztiszból is izolálták és szekvenálták, melynek alapján mintegy 70%-ban homológnak bizonyultak az *E. coli* EF-Tu szekvenciájával.

A riboszómáról kilépő EF-Tu-GDP komplex aktiválása, vagyis GTP-t kötő formába hozása egy másik elongációs faktor, az EF-Ts segítségével történik.

9.6.2.2. A peptidkötés kialakulása

Az aminoacil-tRNS kapcsolódása után a peptidil helyen (P/P) található fMet-tRNS$_f$(vagy pep-tRNS) és az akceptor (A/A) helyen lévő újonnan belépett aminoacil-tRNS olyan térbeli elrendeződést vesz fel (*akkomodáci)*, mely lehetővé teszi, hogy köztük a peptidkötés kialakuljon. A peptidkötés kialakítása riboszomális RNS-katalizált transzpeptidációs reakció, mely a nagy riboszomális alegység peptidil-transzferáz központjában történik (9.4. d. ábra).

Kialakításához sem oldható fehérje faktorok, sem GTP hidrolízisének energiája nem szükséges. Az energiát tulajdonképpen az az ATP szolgáltatja, mely az aminoacil-tRNS kialakulása során használódott el. A peptidkötés kialakulása után a most már egy aminosavval hosszabb peptid gyakorlatilag nem változtatja meg a helyét, hanem a tRNS peptidet tartó vége kerül át az A helyről a P helyre (A/P helyzet 9.4. e. ábra). Ezzel egyidőben a dezacilált tRNS 3’ vége is átkerül az E helyre (P/E helyzet 9.4. e. ábra).

9.6.2.3. A transzlokáció

A transzlokáció folyamatában a peptidlánc egy aminosavval történt meghosszabbodása után az A helyen elhelyezkedő peptidil-tRNS antikodon vége is (még mindig saját kodonjához kötötten, tehát az mRNS-sel együtt mozogva) átkerül a P helyre (P/P állapot 9.4.f. ábra). Egyidejűleg a dezacilált tRNS átkerül a kilépő helyre (E/E állapot 9.4.f. ábra), az A/A hely pedig szabaddá válik a következő kodon által meghatározott aminoacil-tRNS számára.

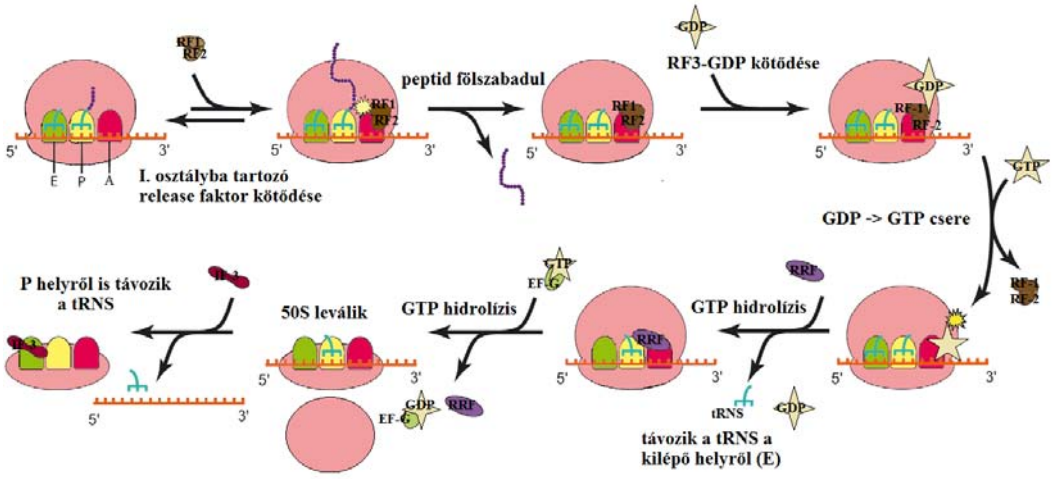
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A transzlokációhoz egy oldható elongációs faktor, a transzlokáz, vagy EF-G, valamint GTP szükséges. A transzlokációt az EF-G-GTP komplex riboszómához kötődése katalizálja. Ez idézi elő azt a konformációváltozást, mely lehetővé teszi a pep-tRNS-mRNS és a riboszóma egymáshoz viszonyított elmozdulást. A GTP hidrolízise csak ezután történik meg és az EF-G, a GDP és a P_i leválik a riboszómáról. Így a riboszóma készen áll a következő elongációs ciklusra. Mivel az EF-G egyenlő erősséggel kötődik a GTP-hez és a GDP-hez, reciklizálásához nem szükséges segédfaktor.

9.6.3. A polipeptid lánc terminációja

Amint az ismétlődő elongációs ciklusok sorozatán át a **riboszóma A helyére** az aminosavat nem kódoló **terminátor kodon**ok (UAG, UAA, UGA) valamelyike kerül, a peptidil-tRNS észter kötése hidrolizál és az elkészült **polipeptid** lánc, ezt követően pedig a **dezacilált tRNS** és az **mRNS** is **felszabadul a riboszómáról**. A terminációhoz mind prokariotáknál, mind pedig a plasztiszokban oldható **terminációs faktorok** (RF1, RF2, RF3; Release Factor1,2,3) szükségesek. Az I. osztályba tartozó faktorok **kodonspecifikus**ak; az **RF1 az UAA és UAG** kodonokra, az **RF2 pedig az UAA és UGA** kodonokra. Bekötődésükkor megtörténik a peptidil-észter kötés hidrolízise a riboszóma peptidil-transzferáz központjában és a peptid felszabadul.

A II osztályba tartozó **RF3 kodon specifitással nem rendelkezik**. GDP-t kötve kapcsolódik a riboszómához, melynek felszínén a peptid felszabadulása után lehetővé válik a GDP-GTP kicserélődése. Ennek következtében úgy változik meg az RF3 szerkezete, hogy előidézi a kodonspecifikus faktorok leválását a riboszómáról. Majd a GTP hidrolizál, ami az RF3 felszabadulásához vezet. A peptid felszabadulása után a dezacilált tRNS és az mRNS még mindig a riboszómához kötődik (posztterminációs komplex) és el kell távolítani ahhoz, hogy az alegységek regenerálódjanak a következő fehérje szintéziséhez. Ebben szerepet játszik egy **riboszóma reciklizáló faktor (RRF**; Ribosome Recycling Factor), valamint EF-G és GTP. Az EF-G-hez kötött GTP hidrolízise idézi elő az RRF disszociációját, miközben maga is leválik. A felszabadult 30S alegységhez még mindig kötődik a tRNS és az mRNS. Az IF3 iniciációs faktor tolja el a reakció egyensúlyát a disszociáció irányába a végtermék elvonásával (9.5. ábra)



9.6. ábra A prokarióta típusú organelláris transzláció terminációja

Bár a terminációs kodonok az adott mRNS transzlációjának végét jelentő jelek, a release faktorokon kívül más makromolekulákkal is kölcsönhatásba léphetnek, ami azt eredményezi, hogy **nem fejeződik be** az mRNS leolvasása **a stop kodonnál**. A jelenség a **termináció szupressziója** néven ismert. Néhány tRNS, az ún. **nonszensz szupresszor tRNS-ek**, értelmes kodonként ismerik fel a nonszensz kodonokat, és helyükön aminosavat építenek be a fehérjemolekulába. Maguk a riboszómák is figyelmen kívül hagyhatják a stop kodonokat akár a **leolvasási keret megváltoztatásával** (transzlációs keretelcsúszás = translational frameshift), vagy azzal, hogy átugorják az mRNS nonszensz kodont tartalmazó szakaszát. Ilyenkor a fehérjeszintézis folytatódik a következő terminátor kodonig és hosszabb, ún. "readthrough" fehérje keletkezik. Azt tehát, hogy egy terminációs kodonnál ténylegesen befejeződik-e a transzláció, egymással versengő események sorozata határozza meg, mely függ az RF-ek mennyiségétől, szupresszor tRNS-ek mennyiségétől a terminátor kodonok számától, szekvenciájától és a környező mRNS szekvenciáktól, melyek elősegíthetik a szupressziót.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

9.7. Eukarióta típusú fehérjeszintézis a citoplazmában

A valódi sejtmaggal bíró szervezetek citoplazmájában végbemenő fehérjeszintézis néhány vonatkozásban jelentősen eltér a prokariótákétól. A fő eltérések a következők:

- az **mRNS-ek monocisztronosak**, és 5' végükön **sapkastruktúrát** a 3' végükön **poli-A szekvenciát** tartalmaznak, melyek a transzláció során fehérjék segítségével összekapcsolódva **zárt gyűrűt alkotnak**
- az mRNS-kben **nem található** meg az a **Shine-Dalgarno szekvencia**, amely lehetővé teszi prokariótáknál a riboszóma kötődését az iniciátor kodon közelében, ezért az iniciáció folyamatában **eltérő az mRNS és az iniciátor tRNS kölcsönhatásának sorrendje** a riboszómával
- **több fehérje faktor szükséges** a folyamat lejátszódásához.

Az iniciáció folyamatának bonyolultsága ugyanakkor lehetőséget nyújt az iniciáció szintjén megvalósuló regulációs folyamatokra.

9.7.1. Az iniciáció

Az iniciáció az **mRNS AUG iniciátor kodonjának felismerése**, mely folyamatban mRNS, riboszóma, iniciátor tRNS és iniciátor faktorok vesznek részt és **ATP**, valamint **GTP** energiája használódik fel. A reakciósor végén aktív 80S iniciációs komplex képződik, mely a riboszóma P helyén lokalizált és az mRNS iniciátor kodonjához antikodonjával kötődő Met-tRNS$_i$-t tartalmaz, de iniciátor faktoroktól mentes. Az iniciációs komplex kialakulása számos intermedieren át megvalósuló folyamat, melyben **több mint 10 iniciátor faktor** vesz részt és melynek során ATP és GTP hidrolizál. Az iniciációs komplex kialakulásának lépései a következők:

1. A 80S riboszóma disszociációja.
2. Az eIF2-GTP-Met-tRNS$_i$ hármas komplex kialakulása és kötődése a 40S riboszomális alegységhez, mely a 43S iniciációs komplex kialakulását eredményezi.
3. Az mRNS kötődése az iniciációs komplexhez, melynek következtében kialakul a 48S iniciációs komplex, majd megtörténik az iniciátor kodon megkeresése.
4. A 60S riboszomális alegység kötődése a 48S iniciációs komplexhez, melynek eredménye az elongációra alkalmas 80S iniciációs komplex kialakulása.

Az iniciációban résztvevő faktorokat osztályokba soroljuk annak alapján, hogy az iniciáció melyik szakaszában vesznek részt. Vannak közöttük több funkciót is ellátó faktorok. Az **eIF1** osztály faktorai *pleiotrop* módon stimulálják az iniciációs komplex kialakulását. Az **eIF2** osztály faktorai az **iniciátor metionil-tRNS kapcsolódásá**t teszik lehetővé a natív 40S riboszomális alegységhez, kialakítva a 43S iniciációs komplexet. Az eIF3 osztályba csak a többfunkciós **eIF3** faktor tartozik, mely a **riboszóma disszociáltatásá**ban és az **mRNS megkötésé**ben játszik szerepet Az **eIF4** faktorok az **mRNS-t kapcsolják a 43S iniciációs komplexhez**, melynek eredményeként a 48S iniciációs komplex képződik. Az **eIF5** faktorok elsődleges szerepe a 48S iniciációs komplex **stabilizálás**ának, a **60S alegység kötődésé**nek és az **első peptidkötés kialakulásá**nak elősegítése. Végül az **eIF6** faktor **megakadályozza** a riboszomális **alegységek asszociációját**.

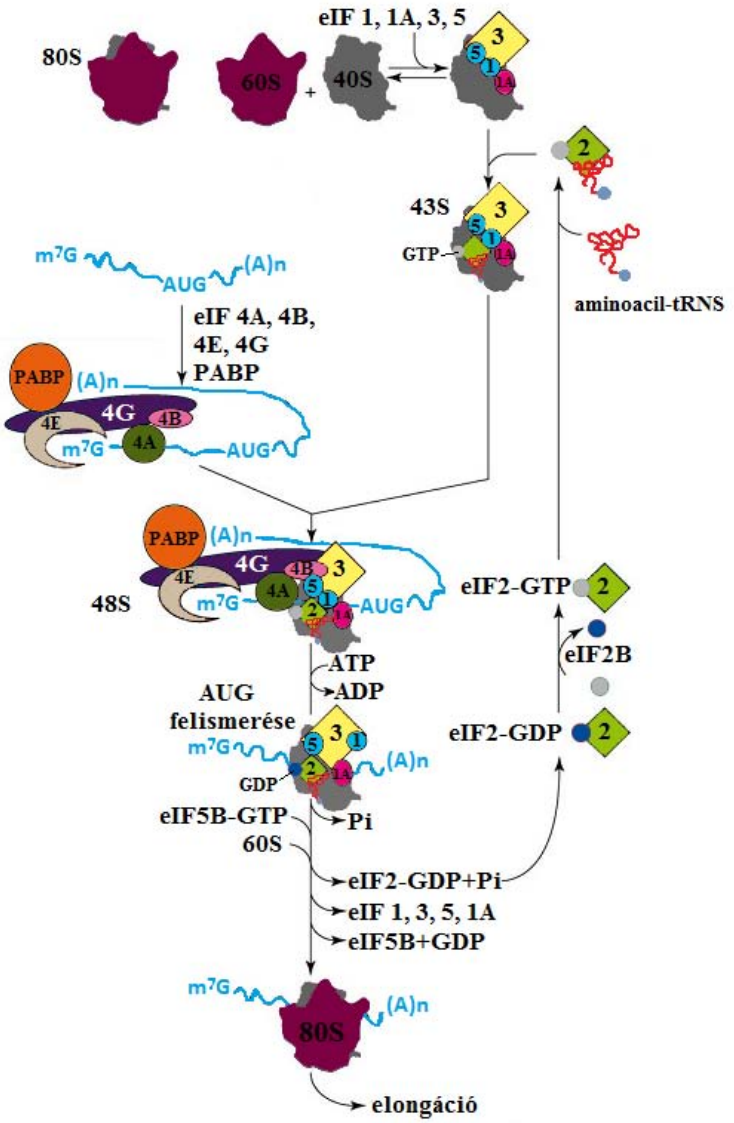
9.7.1.1. A riboszóma disszociációja

Az asszociált és disszociált alegységek között az eIF1A, az eIF1, az eIF3, és az eIF6 fehérje faktorok befolyásolják az egyensúlyt. Az eIF1A mind a 80S riboszómához, mind a 40S alegységhez képes kötődni, mindkét irányban növelve a kicserélődési rátát. Az eIF3 csak a kis alegységhez kötődik, megakadályozva az asszociációt. Az eIF6 a nagy alegységhez kapcsolódva szintén antiasszociátor hatású.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

$$80S\text{-}eIF1A \rightarrow 60S + 40S\text{-}eIF1A \xrightarrow[eIF6]{eIF1,3,} 60S\text{-}eIF6 + 40S\text{-}eIF1A\text{-}eIF1\text{-}eIF3$$

Az eIF3 jelenléte feltétele annak, hogy a riboszóma megfelelő konformációban legyen az eIF2-GTP-Met-tRNS$_i$ hármas komplex bekötődésekor, valamint szükséges az mRNS kötődéséhez is. Részt vesz a preiniciációs komplex kialakulásában még egy kis moltömegű fehérje, az eIF1, mely az iniciáció folyamán kialakuló különböző komplexek stabilizálásában játszik szerepet.



9.7. ábra Az eukarióta fehérjeszintézis iniciációja

9.7.1 2. Az iniciátor tRNS kötődése a kis riboszomális alegységhez és a 43S iniciációs komplex kialakulása

Eukarióta szervezetek sejtjeiben a metionil-tRNS az iniciátor, mely eIF-2-Met-tRNS$_i$-GTP hármas komplex formájában kötődik a 40S riboszomális alegységhez. Kapcsolódása megelőzi az mRNS-ét, tehát az események sorrendje itt eltér a prokariótáknál megismertektől. Ugyancsak az mRNS bekötődése előtt kapcsolódik az eIF5 iniciációs faktor, melynek a GTP hidrolízis szabályozásában van szerepe. A 43S preiniciációs komplex képződése a következőképpen összegezhető:

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

eIF2-GTP-Met-tRNS$_i$ + 40S-eIF1A-eIF1-eIF3 + eIF5 <==> 40S-eIF2-GTP-Met-tRNS$_i$-eIF1A-eIF1-eIF3-eIF5

9.7.1.3. Az mRNS kötődése, a 48 S iniciációs komplex kialakulása

Az eukarióta mRNS riboszómához kötődésének feltétele a 43S iniciációs komplex kialakulása, melyben jelen van az iniciátor tRNS, tehát a prokarióta riboszómán lejátszódó folyamatoktól eltérő az események sorrendje. Az mRNS-ek jellegzetes sajátosságainak jelentősége van a fehérjeszintézis szempontjából. Ezek az mRNS-ek monocisztronosak, 5' végi sapkát és 3' végi poli-A szekvenciát tartalmaznak és az 5' végi nem transzlálódó régiójukban nem található Shine-Dalgarno-szekvencia (mely prokariótákban pontosan megszabja az mRNS riboszómához kötődésének helyét), ennek következtében nem az mRNS és az rRNS között, hanem csupán az iniciátor AUG kodon és a riboszómára már az mRNS kapcsolódása előtt bekötődött Met-tRNS$_i$ antikodonja között jön létre nukleinsav-nukleinsav kölcsönhatás az iniciáció során. Vagyis a kötőhely kialakításában, valamint az mRNS sajátságainak felismerésében nagy szerephez jutnak az iniciátor faktorok.

Az mRNS riboszómához kötődéséhez szükséges faktorok az eIF4 faktorcsaládba tartoznak. Az eIF4F növényeknél két különböző alegységből álló fehérje, melynek a kis alegysége az eIF4E, a nagy alegysége az eIF4G. Növényeknél izoformájuk is van (eIFiso4E, és eIFiso4G). Az **eIF4E** faktorok, melyeket sapkakötő fehérjéknek is neveznek, **közvetlenül kapcsolódnak** az **mRNS 5' végi sapkastuktúrjához**. Az eIF4E az egyszerű metilált sapkát és a nem transzlálódó régióban hajtűszerű struktúrákat tartalmazó mRNS-eket, az eIF4isoE pedig a többszörösen metilált sapkát és a lineárisabb nem transzlálódó régióval rendelkező mRNS-eket részesíti előnyben. Az **eIF4G az mRNS 3' végi poliA szekvenciájához kötődő** (PAB = PoliA Binding) **fehérjékkel lép kölcsönhatásba**, melynek következtében az **mRNS gyűrűt alkot,** amely a transzláció során fennmarad. Ezt követően az eIF4A és eIF4B faktorok is kapcsolódnak az mRNS sapka struktúra közelében és egyben kötődnek a cirkularizációt kialakító eIF4G faktorhoz is.

A 43S iniciációs riboszóma komplex kötődése az mRNS-en az 5' végi sapka stuktúra közelében történik. Az mRNS stabil kapcsolódása a 43S preiniciációs komplexszel egy újabb intermedier, a 48S iniciációs komplex kialakulását eredményezi. Az iniciátor kodon ettől mintegy 50–100 nukleotidnyira található a molekulán 3' irányban haladva. Ahhoz tehát, hogy az iniciátor kodont megtalálja, a riboszómának el kell mozdulnia az mRNS mentén. Ezt a folyamatot **pásztázásnak** nevezik (scanning). A pásztázás ATP-igényes folyamat, melyben az ATPáz és helikáz aktivitással rendelkező **eIF4A és eIF4B** faktorok vesznek részt. A pásztázás során az **IF5** faktornak az a szerepe, hogy megakadályozza az irreverzibilis GTP hidrolízist az eIF2-GTP-Met-tRNSi hármas komplexben mindaddig, amíg az iniciátor kodon és a Met-tRNSi között a kodon – antikodon kölcsönhatás létre nem jön. Ezt követően az eIF1, eIF3 iniciátor faktorok leválnak, az eIF5 pedig áthelyeződve az eIF1A-ra lehetővé teszi az irreverzibilis GTP hidrolízist az eIF2 felszínén.

9.7.1.4. A 80S iniciációs komplex kialakulása

A 60S riboszomális alegység kötődése szükséges ahhoz, hogy a 48S preiniciációs komplex transzlációra alkalmas 80S iniciációs komplexszé alakuljon át. Az iniciációnak ebben a szakaszában az események sorrendje a következő:

1. a GTP hidrolízise,

2. az iniciációs faktorok felszabadulása,

3. a 60 S alegység stabil kapcsolódása és a 80 S iniciációs komplex kialakulása.

A 60S alegység kötődésében központi szerepet játszik a már említett eIF5 iniciációs faktor azáltal, hogy katalizálja a kis alegységen a kodon-antikodon kölcsönhatás kialakulása után a hidrolízishez megfelelő pozícióba kerülő, Met-tRNS$_i$-eIF2-GTP hármas komplexben kötött GTP hidrolízisét. Ezt segíti elő az eIF5-höz átmenetileg kapcsolódó eIF1A faktor is. A GTP hidrolízise után az iniciációs faktorok felszabadulnak és lehetővé válik a 60 S alegység stabil kötődése, ami a 80 S iniciációs komplex kialakulását eredményezi.

A GTP hidrolízise után az eIF2- GDP disszociál a riboszómáról és az eIF2B reciklizáltató faktor segítségével, vagy spontán, GTP felhasználásával újra eIF2-GTP komplexszé alakul.

A 60S riboszomális alegység az eIF6 antiasszociátor faktorral együtt található a sejtben. Az alegység kötődésekor, melyet az eIF5B faktor segít elő, az eIF6 felszabadul. Az így kialakult aktív 80S iniciációs komplex iniciátor faktorokat nem tartalmaz, a P helyén iniciátor tRNS található, mely antikodonjával az mRNS AUG kodonjához

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

kötődik, az A helye pedig üres. Tehát képes fogadni a következő kodon által meghatározott aminoacil-tRNS-t és részt venni az elongációban.

Eukariótáknál az első peptidkötés kialakulásához további konformációváltozások szükségesek, melyeket egy újabb fehérje faktor, az **eIF5A** kötődése idéz elő. Az eIF5A faktor egy különleges aminosavat, a hipuzint tartalmazó fehérje, melynek nem csak a transzláció, hanem az mRNS készlet (részben transzport függő) szabályozásában, ezáltal a sejt életképességének regulálásában is fontos szerepe van.

9.7.2. A peptidlánc elongációja

Az iniciátor és terminátor kodonok közti mRNS lánc transzlációja, vagyis a **láncközi kodonok dekódolása** a prokarióták transzlációjához hasonlóan történik. A ciklusos folyamatban az eEF1A elongációs faktorhoz és GTP-hez kötött tRNS-ek sorban belépnek a riboszóma A helyére, majd egy minőség-ellenőrzés után kialakul a peptidkötés. A peptidil-transzferáz reakció után a riboszóma és a pep-tRNS elmozdulnak egymáshoz képest egy triplettnyit a transzlokációs eEF2 faktor segítségével úgy, hogy az A helyre új kodon kerül, és egyben szabaddá válik a következő aminoacil-tRNS bekötődéséhez. Az elongáció folyamatát három részre oszthatjuk:

1. az aminoacil-tRNS kötődése a riboszóma A helyére,

2. a peptidkötés kialakulása,

3. a peptidil-tRNS transzlokációja a P helyre.

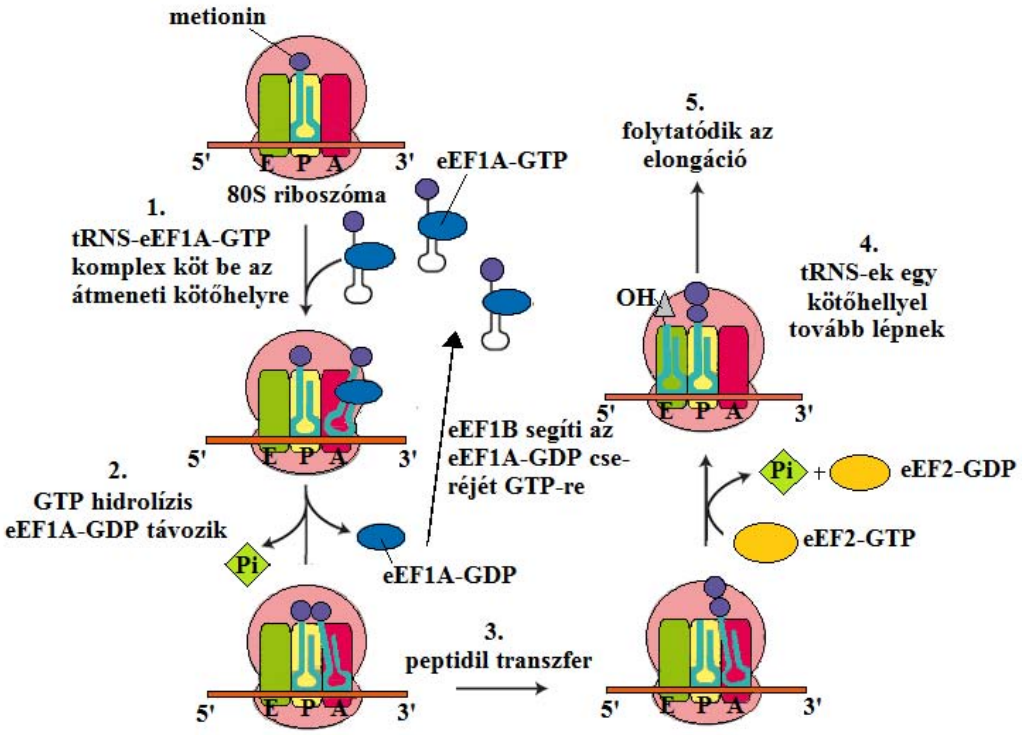
9.7.2.1. Az aminoacil-tRNS kötődése a riboszomális A helyre

A prokariótáknál leírtakhoz hasonlóan magasabb rendű szervezetekben is hármas komplex formájában történik meg az aminoacil-tRNS kapcsolódása a riboszómához. A hármas komplex az eEF1 összetett fehérje faktor egyik alegysége, **az eEF1A, GTP és aminoacil-tRNS** részvételével jön létre. A kodon-antikodon stabilitáson alapuló **minőségellenőrzés**t követően a GTP hidrolizál és a GDP-eEF1A komplex disszociál a riboszómáról. Az eEF1 faktor másik három alegysége, melyeket együttesen **eEF1B**-vel jelölnek, az **eEF1A-GDP komplex GDP-jét cseréli ki GTP-re** (9.8. ábra).

9.7.2.2. A peptidkötés kialakulása

Az aminoacil-tRNS a GTP hidrolízise és az eEF1A leválása után az A helyen megfelelő konformációba kerül ahhoz, hogy kialakuljon a peptidkötés. Prokarióták transzpeptidációjához hasonlóan a folyamathoz **sem oldható faktorok,sem nukleotid trifoszfátok jelenlétére nincs szükség.** A peptidil-transzferáz központ a 60S alegységen található, de a 40S alegység fehérjéi is részt vesznek a kialakításában. A katalitikus aktivitásban a riboszomális RNS-ek játszanak szerepet. A peptidkötés kialakulása után a peptid átkerül a P helyen levő tRNS-ről az A helyen levő tRNS-re úgy, hogy annak antikodon vége még az A helyen marad, a peptidet hordozó vége pedig a már elmozdul a P helyre. Ugyanakkor az aminosavát elvesztett dezacilált tRNS 3’ vége is eltolódik az E hely felé, antikodon vége azonban még a P helyen lévő kodonnal kapcsolódik (9.8 ábra). Ezt az átmeneti kötődési állapotot szünteti meg a transzlokáció.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



9.8. ábra Az eukarióta fehérjeszintézis elongációja

9.7.2.3. A peptidil-tRNS transzlokációja

A transzlokáció során peptidil-tRNS átkerül a P helyre, a dezacilált tRNS pedig az E helyre, majd utóbbi leválik a riboszómáról. A transzlokáció egyben az **mRNS és a riboszóma egymáshoz viszonyított egy triplettnyi elmozdulásá**t is jelenti az mRNS 3' vége irányába. A peptidil-tRNS transzlokációját a P helyre eukariótáknál az **eEF-2** GTPáz családba tartozó fehérje faktor katalizálja. Az eEF-2-t számos növényi és állati szervezetből izolálták. Egyszerű polipeptid, mely egy diftamidnak nevezett, speciálisan módosított hisztidint tartalmaz. (A diphtamid elnevezés onnan ered, hogy az eukarióta fehérjeszintézist gátló diftéria toxin katalizálja NAD-ról ADP-ribóz átvitelét erre az aminosavra, ezáltal inaktívvá teszi a fehérjét transzlokációs reakcióban.)

A transzlokáció befejeztével a GTP hidrolizál, az eEF2-GDP komplex leválik a riboszómáról, majd GTP-vel reagálva regenerálja az eEF2-GTP aktív komplexet. A riboszóma készen áll a következő elongációs ciklusra (9.8. ábra).

9.7.3. A polipeptid lánc terminációja

Az elongációs ciklus addig folytatódik, míg a riboszóma A helyére terminátor kodon (UAA, UGA vagy UAG) kerül. Ilyenkor GTP jelenlétében a **terminátor faktor**, **eRF** kötődik az A helyre, majd

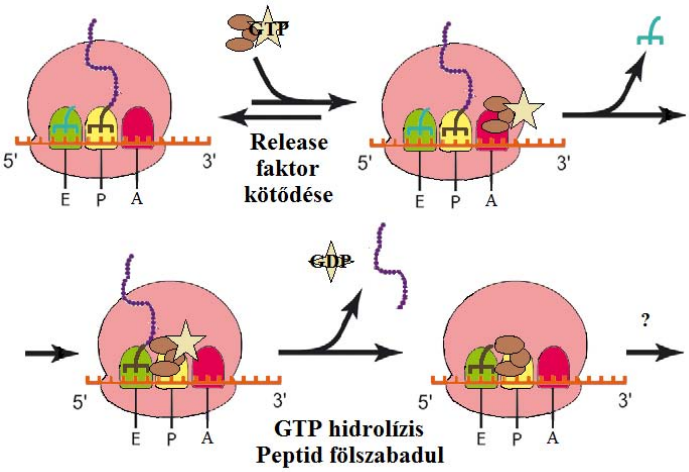
- a peptidil-tRNS észterkötése hidrolizál,

- a kész polipeptid, az mRNS és a dezacilált-tRNS felszabadul a riboszómáról.

Az eukarióták terminációját egyetlen release faktor katalizálja. Működéséhez GTP-t igényel, kodonspecifitást nem mutat.

A terminációa a következőképpen történik: az A helyen található terminátor kodonhoz az **eRF-GTP** komplex kötődik és elősegíti, hogy a riboszóma peptidil-transzferáz központja a peptidil-tRNS észterkötését hidrolizálja. A reakciót követően a GTP hidrolizál, a terminátor faktorok, a dezacilált-tRNS és az mRNS leválik a riboszómáról (9.9. ábra).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



9.9. ábra Az eukarióta fehérjeszintézis terminációja

Eukariótáknál is jól ismert az a folyamat, melynek során egyes tRNS-ek a **terminátor kodont értelmes kodonként ismerik fel** és helyére aminosavat építenek be a fehérjeláncba, melynek következtében hosszabb fehérjék keletkeznek.

Növényeknél a természetes szupresszió számos esetét figyelték meg. Növényi vírusok ezt a lehetőséget használják fel arra, hogy ugyanazon RNS-ről két vagy több fehérjét szintetizáljanak. Jól dokumentált példája ennek a dohánymozaik vírus RNS-e, melyről egy 126 kDa-os és egy 180 kDa-os fehérje szintetizálódik. A "*readthrough*" fehérje szintézisében a gazdanövény két természetes izoakceptor tRNS-e vesz részt, melyek tirozinként olvassák le a stop kodont. Számos növényből (pl. búzából, csillagfürtből) kimutattak ilyen tRNS-eket.

A természetes tRNS-ek egy másik csoportja specifikusan az opal (UGA) kodont ismeri fel. Prokariótáktól az állatokig számos szervezetben szükséges funkcióképes fehérjék kialakításához az UGA szupressziója. Emlős sejtekben glutation-peroxidáz aktív enzim kialakulásához szükségesek olyan szupresszor tRNS-ek, melyek szerinnel acilálhatók, majd a szerin foszfoszerinné, ezt követően pedig szelenociszteinné módosul. A stop kodonnál a szelenocisztein beépül a fehérjébe. A folyamatban járulékos fehérjefaktorok vesznek részt és az mRNS megfelelő konformációja is szükséges (SECIS = SEleno-Cysteine-Insertion-Sequence) a szupresszálandó stop kodon felismeréséhez.

9.8. A fehérjék intracelluláris transzportja

9.8.1. Az intracelluláris transzportutak áttekintése

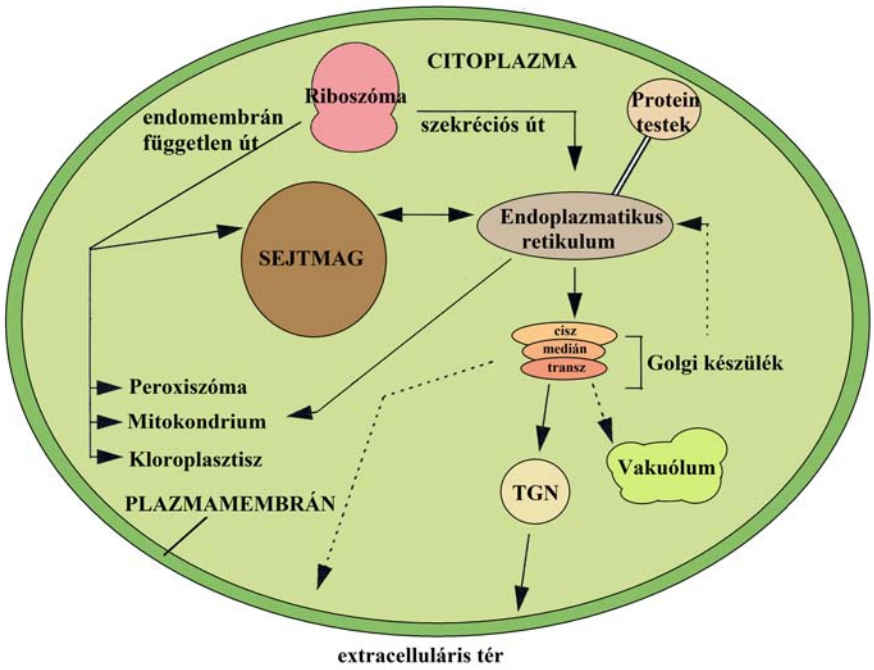
A növényi sejtekben a fehérjék szintézisére a citoplazmában és az autonóm organellumokban van lehetőség. A plasztiszok és a mitokondriumok saját genommal és fehérjeszintetizáló apparátussal rendelkeznek, fehérjéik nagy része azonban a sejtmagban kódolt és a citoplazmában szintetizálódik. A citoplazmában szintetizált fehérjék rendeltetési helye tehát lehet valamely membránnal határolt autonóm organellum (kloroplasztisz, mitokondrium), nem autonóm organellum (pl. peroxiszóma) vagy lítikus ill. raktározó kompartment (pl. vakuólum vagy a magvak raktározó fehérjéit tartalmazó proteintestek), a sejtmag, vagy a sejt felszíni membránjai. A citoszólban szintetizálódó fehérjék két csoportba oszthatók:

1. azok a fehérjék, melyek a szabad riboszómákon szintetizálódnak és végső rendeltetési helyükre az **endomembrán rendszertől független** folyamatban jutnak el (pl. kloroplasztisz, mitokondrium fehérjék),

2. olyan fehérjék, melyek az endoplazmatikus retikulumhoz (ER) kötött riboszómákon szintetizálódnak és a **szekréciós út**on át jutnak el rendeltetési helyükre. A szekréciós út membránrendszerekből és a köztük dinamikus kapcsolatot létesítő vezikulumokból áll. A szekréciós út oldható és membránfehérjéi az endoplazmatikus retikulumba kerülnek be először, majd a Golgi-apparátuson át, vagy közvetlenül az ER-ből jutnak el a vakuólumokba, vagy a

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

sejtfelszínre. A citoplazmában szintetizálódó fehérjék lehetséges rendeltetési helyeit és szállításuk módját összegzi vázlatosan a 9.10. ábra.



9.10. ábra A citoplazmás szabad riboszómákon szintetizálódó fehérjék, valamint az endoplazmatikus retikulum felszínéhez kötött riboszómákon szintetizálódó fehérjék transzportja

9.8.2. Fehérjetranszport a plasztiszokba

A plasztiszok szerkezetüket tekintve a legösszetettebb organellumai az eukarióta sejteknek, melyeken belül hat funkcionálisan különböző helyet lehet megkülönböztetni, nevezetesen a **külső** és a **belső borítómembrán**t, a **membránok közötti ter**et, a **sztrómá**t, valamint a **tilakoidmembrán**t és **lumen**t. A plasztiszok szerkezetéből adódóan valamennyi ide kerülő fehérjének legalább egy, de esetleg három membránon is át kell jutnia, hogy a rendeltetési helyét elérje.

A sztrómába jutást a külső és a belső membrán transzlokációs komplexei biztosítják (TOC/TIC = Translocon at the Outer/Inner envelope membrane of Chloroplast). A transzport energiaigényes, de nem szükséges hozzá membránpotenciál kialakulása, mint a mitokondriumoknál. A sztrómából a fehérjék tovább szállítódhatnak a tilakoidmembránba vagy lumenbe, vagy visszajuthatnak a belső borítómembránba. A fehérjék plasztiszba történő transzportjának sematikus áttekintését adja a 9.11. ábra.

9.8.2.1. A kloroplasztiszba-jutásért felelős jelszekvenciák

A kloroplasztisz megfelelő helyére történő bejutást speciális jelszekvenciák, az ún. **tranzitpeptidek** határozzák meg, melyek **felismerő jelként szerepelnek a fehérje szállítása során**. A tranzitpeptidek mintegy 25-150 aminosavból álló szekvenciák, melyeknek N-terminálisán töltéssel nem rendelkező, a középső részén savas oldalláncot nem tartalmazó, a C terminálisán pedig argininekt tartalmazó szekvencia található. Amint a fehérje bejutott rendeltetési helyére, a tranzitpeptideket proteázok lehasítják. A tilakoid lumenbe kerülő fehérjék tranzitpeptidjei két részből állnak, melyek két lépésben; a borítómembránokon, majd a tilakoidmembránon átjutva hasadnak le. A külső membránba, valamint a plasztiszon belül a tilakoidmembránba való beépülést a fehérjék C terminálisán, vagy láncközben található, az érett fehérjékben is meglévő szekvenciarészletek határozzák meg, melyek lehetővé teszik a fehérje beilleszkedését membránba.

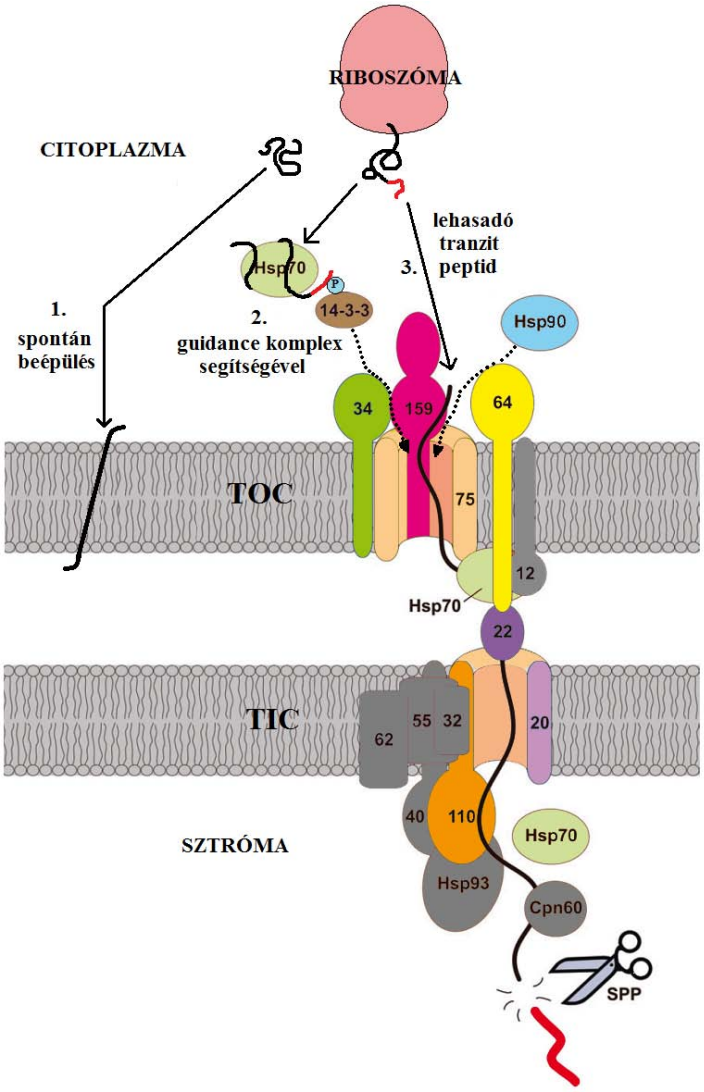
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

9.8.2.2. Fehérjetranszport a külső borítómembránba

A külső borítómembrán fehérjéinek transzportja különbözik a kloroplasztisz belső terébe történő transzporttól. A membránspecifitást a fehérjék szerkezeti sajátságai határozzák meg, mivel nincs lehasadó tranzitpeptidjük. A külső membránban lokalizált transzlokációs komplex egyik receptor fehérjéjének, a Toc34-nek a beépüléséért a C terminálisán levő hidrofób szakasz a felelős. A külső membrán transzlokációs komplexét alkotó legtöbb fehérje beépülése **spontán** folyamat, de pl. a transzport komplexet alkotó Toc75 a beépülése a kloroplasztisz felszínén található proteázérzékeny faktoroktól és ATP hidrolízisétől is függ.

9.8.2.3. Fehérjetranszport a belső borítómembránba

A plasztisz belső borítómembránjába történő transzport első lépése megegyezik a sztrómába történő transzportéval: nevezetesen a fehérjét tranzitpeptidjénél fogva a szállítókomplex receptora megköti a plasztisz felszínén. A belső membrán fehérjéinek többféle lehetőségük van arra, hogy a belső membránba bejussanak. Az ún. *conservative sorting* során a megkötődött fehérje előbb transzlokálódhat a plasztisz belsejébe, ahol lehasad róla a tranzitpeptid, majd azt követően kerül vissza a belső membránba. Ha a fehérje a membrán-lokalizációért felelős hidrofób jelszekvencia segítségével megkötődik a belső membránban anélkül, hogy bejutna a sztrómába akkor ún. *stop transfer* történik.



9.11 ábra A citoszólban szintetizálódó plasztiszfehérjék transzportja a külső membránba és a szrtómába a membránok transzlokációs komplexeinek segítségével.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

9.8.2.4. Fehérjetranszport a sztrómába

A citoplazmában szintetizálódó kevéssé kompakt struktúrával rendelkező fehérjék tranzitpeptidjük segítségével közvetlenül is kötődhetnek a **külső membrán transzlokációs komplexének receptorá**n. Ilyenkor a receptor többnyire a Toc159, (egy 159 kDa-os fehérje) melynek működését GTP kötődése, valamint ATP-től függő foszforilációja szabályozza. A kompaktabb struktúrájú fehérjék a citoplazmában Hsp70, 14-3-3 és Hsp90 családba tartozó chaperonok, valamint foszforilációt szabályozó fehérjék segítségével nyitottabb konformációra tesznek szert, esetenként foszforlilálódnak, majd átmenetileg ugyancsak a **Toc34, vagy Toc159** recptorokhoz kötődve tranzitpeptidjükkel beirányítódnak a pórust alkotó fehérjekomplexbe (Toc75). A külső borítómembránon való átjutás során az egyes fehérjék szerepe a következőképpen vázolható. A prekurzor megkötődik a foszforilált és GTP-t kötő aktív receptor felszínén. A **pórust alkotó Toc75** fehérjéhez kapcsolódó Toc35 receptor foszforilálódik és GTP-t köt, aminek következtében saját maga is és a Toc75 fehérje is olyan konformációváltozást szenved, mely a pórus kinyílását eredményezi. A pórus kinyílása lehetővé teszi a prekurzor átjutását a külső borítómembránon, melyet a belső oldalon Hsp70 hősokkfehérjék családjába tartozó chaperonok segítenek elő. Az átjutás feltétele a prekurzor felszabadulása a receptorról, melyet a receptorhoz kötött GTP hidrolízise és defoszforilációja tesz lehetővé (9.11. ábra).

A belső borítómembránon való átjutást a belső membrán integráns fehérjéi, a **Tic komplex** tagjai segítik elő. Közülük a **Tic 22 benyúlik a membránok közötti térbe**. Ezáltal részt vesz a membránok közötti kapcsolódási helyek kialakításában és a transzlokálódó fehérjének az irányításában a belső membrán transzlokációs komplexe felé. A **Tic20** és a **Tic110 részt vesznek a csatorna kialakításában**. A **Tic55 egy Rieske-féle vas-kén centrumot** tartalmazó fehérje, mely a komplex több tagjával együtt (Tic32,62) **redox regulált** és a komplex más tagjaival együtt segíti a transzlokációt a sztróma felőli oldalon kötődő chaperonin fehérjékkel együtt. A folyamat energiaigényes. Az ATP valószínűleg egy hsp70 családba tartozó chaperon fehérjéhez való (több lépésben lejátszódó) kapcsolódáshoz és felszabaduláshoz szükséges, mely a kloroplasztisz belsejében megy végbe, és amelynek eredményeképpen a prekurzor az organellum belsejébe kerül.

Az organellumban a sztrómában található **proteázok** (SPP=Stromal Processing Peptidase) **lehasítják a tranzitpeptidet** a prekurzor -NH_2 végéről. Ezt követően történik meg a transzlokációhoz kitekeredett fehérje biológiailag aktív konformációjának kialakítása, vagy a fehérje további transzportja a tilakoidokba.

9.8.2.5. Fehérjetranszport a tilakoidokba

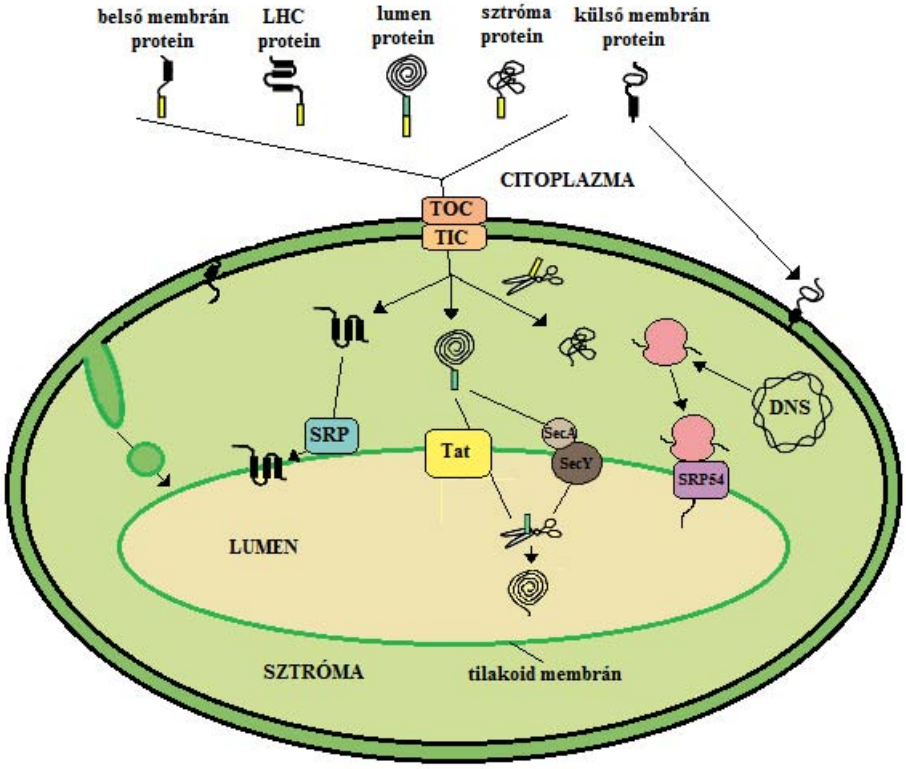
A sztrómába bejutott **tilakoidmembrán fehérjék** általában **nem tartalmaznak** további **lehasadó szignált**, hanem belső jelszekvenciáik határozzák meg, hogy a tilakoid membránjába kerüljenek. A kettes fotoszisztéma fénybegyűjtő komplexe, az LHCII, pl. három olyan alfa-helixet tartalmaz, mely a membránt átéri. Bármelyiknek a kiesése gátolja a fehérje integrációját a tilakoid membránjába. A beépüléshez ATP vagy GTP és sztróma faktor, valamint a membrán két oldala közötti pH-különbség egyaránt szükséges. A sztróma faktor (SRP, mely homológ a riboszómák membránkötődéséért és a fehérjék ER-be jutásáért felelős szignálfelismerő partikulum 54 kDa móltömegű fehérjéjével, l. később), valószínűleg chaperonként szerepel; segít oldható, integrációra alkalmas formában tartani az egyébként oldhatatlan, hidrofób LHCII-t.

Az ATP szintáz komplex II (CF_oII) alegysége eltérő mechanizmus szerint épül be a tilakoidok membránjába. Transzportjához sem ATP, sem sztróma faktor, sem pedig pH-különbség nem szükséges. Ez arra enged következtetni, hogy az integráció spontán módon történik. Az integráció úgy képzelhető el, hogy a két hidrofób régiójánál fogva a fehérje megkötődik a membránban, míg a köztük lévő szakasz, az érett peptid N-terminálisa, hurkot képezve átnyúlik a membránon.

A lumenben lokalizált fehérjék egy része (a plasztocianin, a vízbontásért felelős komplex 33K, 23K, valamint 16K fehérjéi) is kétlépéses folyamattal jut be a lumenbe, melynek első lépése a már említett transzfer a kloroplasztiszt határoló membránokon át. Ezért a **lumenfehérjéknek két részből álló tranzitpeptidjük** van, melynek **első része lehasad a sztrómába jutást követően**. A **lumenbe** szállítódó **fehérjék két csoportba oszthatók** aszerint, hogy **mi szükséges a transzportjukhoz**. Az **egyik csoport** transzportjához (pl. plasztocianin, a vízbontásért felelős komplex 33K, 23K, valamint 16K fehérjéi), melynek szignálpeptidje a bakteriális plazmamembránon való átjutásért felelős szignálpeptidekhez hasonlít, **szállítókomplex (SecA,Y),** valamint **ATP** feltétlenül szükséges. A **másik csoport** transzportjához ugyancsak szükséges **szállító komplex (Tat), függ a tilakoid pH-jától**, ATP azonban nem kell hozzá (PSI-N, 23K és 16K fehérjék). A tilakoidokba történő transzport mechanizmusokat a 9.12. ábra összegezi.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A legújabb kutatási eredmények szerint vezikuláris fehérjetranszport is lehetséges az endoplazmatikus retikulumból a plasztiszokba, melynek során fehérjét szállító vezikulumok mebránja beolvad a plasztisz külső membránjába. A sztrómába jutás mechanizmusa nem tisztázott, egyaránt elképzelhető a belső membrán vezikulációjával, vagy a TIC komplex transzportereinek segítségével.



9.12. ábra Fehérjetranszport a tilakoid memránba és lumenbe. A lehasadó szignálokkal rendelkező lumenfehérjék transzportját a szignál jellemzőitől függően a bakteriális szekréciós szállítókkal homológ SecA,Y, vagy a Tat fehérje komplexek segítik, a nem lehasadó szignálú molekulák beépülése spontán módon, vagy az SRP (szignálfelismerő partikulummal homológ) fehérjék segítségével történik.

9.8.3. Fehérjetranszport a mitokondriumokba

A mitokondrium két membránnal borított autonóm organellum, mely saját fehérjéinek csak mintegy 5%-át kódolja. A működéséhez szükséges többi fehérje a sejtmagban kódolt és a citoplazmás szabad riboszómák felszínén szintetizálódik. Ezeknek a fehérjéknek be kell jutniuk a mitokondrium különböző kompartmentjeibe, melyek a transzport szempontjából a következők: **külső membrán, belső membrán, membránok közötti tér és mátrix**. A mitokondriális transzport alapvető lépései hasonlóak a plasztiszba történő transzport megfelelő lépéseihez, természetesen a folyamatban részt vevő molekulák különböznek. Különbség a plasztisztranszporthoz képest az is, hogy a **mátrixba** csak akkor történik **transzport, ha elektrokémiai potenciál gradiens** alakul ki a belső membrán külső és belső oldala között. A transzportálódó fehérjék az érett fehérjénél hosszabb **preproteinek** formájában szintetizálódnak, melyek tartalmazzák a mitokondriális transzportot meghatározó ún. **sorting v. targeting szignálokat**. A preproteinek a citoszólban kapcsolatba lépnek chaperonokkal és egyéb olyan faktorokkal, melyek a preproteinnek szállításra és transzportra alkalmas laza, fel nem tekeredett térszerkezetet biztosítanak. A prekurzor ezt követően a saját jelszekvenciája révén, vagy chaperonokon keresztül, kapcsolatba lép a mitokondrium transzportért felelős receptoraival, majd számos membrán- és egyéb fehérje közreműködésével transzlokálódik a mitokondrium különböző részeibe, ahol a lehasadó szignál szekvenciákat peptidázok lehasítják.

9.8.3.1. A mitokondriális transzportért felelős szignálok

A mitokondrium **mátrixba** kerülésért felelős **szignálszekvenciák** általában az **N-terminálison** található, a transzport után **lehasadó**, 10–80 aminosavból álló peptidek, melyek egyik oldalon hidrofób, a másokon + töltésű aminosavakat

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

tartalmazó **amfipatikus hélix** kialakítására képesek. A **membránok**, valamint a **membránok közötti tér fehérjéinek szignáljai láncközben** helyezkednek el az érett fehérjében is meglévő, nem lehasadó formában. A mátrix és a **belső membrán fehérjéi** gyakran **két részből álló szignál**t tartalmaznak, melynek egyik eleme egy (rendszerint a szignál N-terminálistól távolabb található) hidrofób szakasz, mely lehetővé teszi a fehérje transzport közbeni (stop transfer) vagy transzport utáni (conservative sorting) beépülését a belső membránba.

9.8.3.2. A mitokondriális transzportban részt vevő fehérjék

A fehérjék mitokondriális transzportjában számos fehérje vesz részt. Nevezetesen: a **külső membránban** (TOM =Translocase of the Outer Mitochondrial membrane) és a **belső membránban** (TIM22, 23 = Translocase of the Inner Mitochondrial membrane) elhelyezkedő **transzlokációs komplexek** fehérjéi, a **külső membránban** található **speciális térszerkezetű fehérjék integrációját elősegítő TOB/SAM** (Topogenesis of mitochondrial Outer membrane β-Barrel proteins/Sorting and Assembly Machinery) komplex fehérjéi, valamint a **mátrixból a belső membránba** irányuló transzportot lehetővé tevő komplex **(OXA1** = Oxidase and Assembly) fehérjéi. Segítik a transzportot a prekurzorhoz kötődő citoszól faktorok, a membránok közötti térben és a mátrixban található chaperonok, valamint a szignálok lehasításában szerepet játszó proteázok. Ezek áttekintését adja a 9.13. ábra.

9.8.3.3. A mitokondriális fehérjetranszport mechanizmusa

A citoplazmás riboszómákon szintetizálódó mitokondriális prekurzor fehérjék szignál szekvenciáit a külső membránban taláható TOM komplex receptorai ismerik fel.

- A **mátrixba jutás**hoz szükséges **lehasadó N-terminális szignál**lal rendelkező fehérjék a **TOM komplex** kis moltömegű **receptoraihoz** (Tom20 és Tom22) kötődnek. Ezután a komplex csatornáján (Tom40) átirányítódva kapcsolódnak a **belső membrán TIM23** komplexének a membránok közötti térbe benyúló **receptorához** (Tim 50), ami **segíti a belső csatornán** (Tim23, 17) való **átjutás**t. A fehérjék csatornákon való átjutásának pontos mechanizmusa nem ismert, de a **mátrixba jutás hajtóereje** a belső membrán két oldala között fennálló **transzmembrán-potenciál különbség**. A folyamatban részt vevő **transzlokációs motorfehérjék** chaperonok, melyek **ATP** hidrolízisétől függő konformációváltozásai teszik lehetővé a prekurzor egyirányú mozgását a csatornán keresztül, áthúzva azt a csatornán, vagy megakadályozva a visszafelé történő mozgását. A **TIM23 komplextől** a **belső membránba** irányuló **közvetlen transzport** is lehetséges. A szállított fehérje sztrómába jutását, vagy belső membránba beépülését követően peptidázok hasítják le a preproteinekről a szignálszekvenciákat. A sztrómába való teljes, vagy részleges bejutás azonban nem zárja ki, hogy a fehérje később a belső membránba, vagy a membránok közötti térbe kerüljön.

- A **külső membrán** integráns fehérjéi, a **membránok közötti tér** fehérjéi, valamint a **belső membrán** fehérjéi **többféle mechanizmus szerint épülhetnek** be a membránokba, vagy juthatnak be a membránok közötti térbe a külső membrán **TOM**, illetve **TOB/SAM** komplexei, valamint a belső membránban található **TIM22 komplexek közreműködésével**. A **nem lehasadó szignállal** rendelkező külső, vagy belső membránfehérjék rendszerint a TOM komplex citoplazmába benyúló 70 kDa-s recptorához kötődnek elsőként, de közvetlenül, vagy chaperonok segítségével is átjuthatnak a TOM csatornán. A membránok közötti térben lokalizált kis chaperonok közreműködésével a külső, vagy a belső membránba irányítódhatnak. A jellegzetes *β-barrel* struktúra kialakítására képes külső membránfehérjék integrációját a TOB/SAM komplex irányítja, míg a belső membrán fehérjéi a TIM22 komplex segítségével épülnek be a belső membránba.

9.8.3.4. A mitokondriális transzport energiaigénye

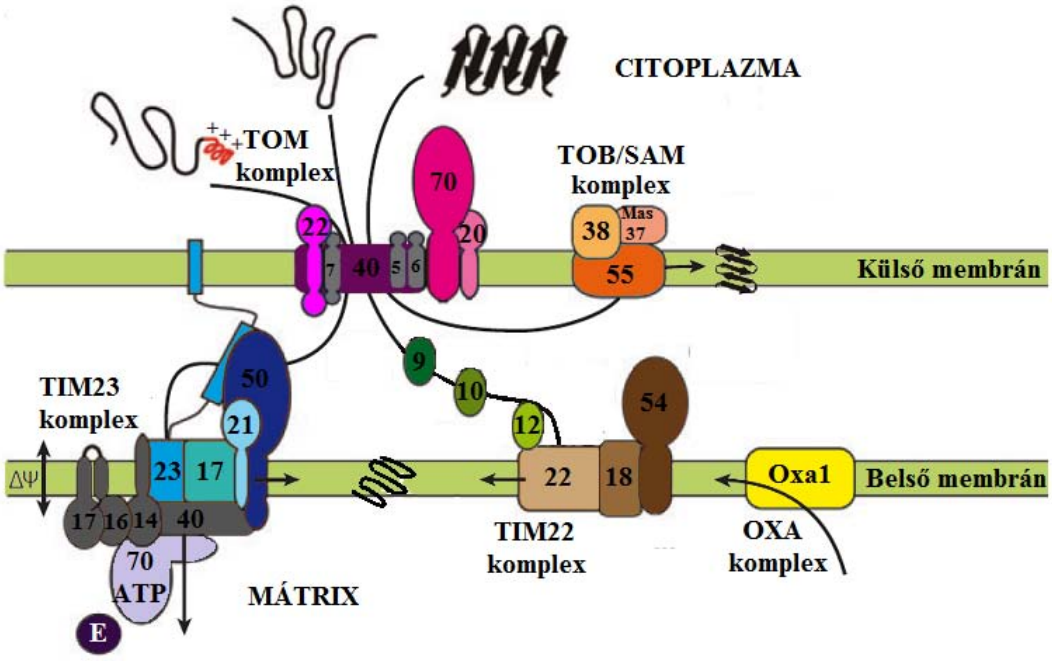
A mitokondriális transzport, amint az a fentiekből látható, többlépéses, energiát igénylő folyamat, melyet **ATP hidrolízise és a belső membrán két oldala között kialakuló elektrokémiai potenciálkülönbség biztosít**. A légzési elektrontranszportlánc protonpumpa aktivitása következtében pH- és elektromos potenciálkülönbség alakul ki a belső membrán két oldala között. A pH- gradienst megszüntető nigericin azonban nem befolyásolja a fehérjetranszportot, vagyis nem a pH-különbség, hanem az elektromos potenciálkülönbség szükséges a fehérjetranszporthoz.

Növényi mitokondriumok fehérjetranszportjának vizsgálata során hasonló következtetéseket lehetett levonni. Nem volt különbség a fehérjetranszportban akár a citokróm-oxidáz, akár az alternatív oxidáz részvételével oxidáltattak el szubsztrátokat a mitokondriummal. Az alternatív oxidáz nem pumpál protonokat, létrejön viszont mintegy 80 mV potenciál különbség a szubsztrát oxidációja során. Mivel a transzport ilyen körülmények között is zavartalanul

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

folyik, ez azt támasztja alá, hogy elektromos potenciál gradiens (belül negatív) és nem proton gradiens szükséges a preproteinek mozgatásához a membránon át.

A transzport több lépése is ATP-függő folyamat, gyakran már a citoplazmában szükséges az ATP hidrolízise. Azok a fehérjék, melyek transzportjához nem szükséges, valószínűleg chaperonok nélkül is szállításra alkalmas konformációban vannak, vagy a megfelelő laza térszerkezetük a mitokondrium membránjának felszíni savas foszfolipidjeivel kölcsönhatásba lépve alakul ki. A mátrixba transzlokálódó fehérjék szállításához azonban a mátrixban is szükséges ATP hidrolízise. Ez részben a fehérjét a mátrixba juttató chaperonok működéséhez, a komplexből való felszabaduláshoz, részben pedig a kompaktabb térszerkezet és a működőképes komplex kialakításához szükséges. A mitokondriális fehérjetranszport folyamatait a 9. 13. ábra mutatja.



9. 13. ábra A mitokondriális fehérjetranszport

9.8.4. Fehérjetranszport a peroxiszómába

A peroxiszómák a növényi sejtekben sokféle funkciót betöltő, nem autonóm organellumok, melyek számos metabolikus folyamatban szerepet játszanak. A magasabb rendű növényekben két fő típusukat különböztetjük meg; a lipidmobilizációban és metabolizmusban szerepet játszó glioxiszómákat, valamint a fotoszintetikusan aktív szövetekben található, a fotorespirációban részt vevő (levél típusú) peroxiszómákat. A **peroxiszómák fehérjéi** a sejtmagban kódoltak, a **citoplazmás szabad riboszómákon szintetizálódnak**, és közvetlen felvétellel kerülnek az organellumba.

Az autonóm organellumokkal ellentétben a **peroxiszómáknak nincs belső membránjuk**. A **fehérjék felvételéért** a membránban található **transzlokációs komplexek felelősek**, melyek a citoplazmában található **oldható receptorok** segítségével **felismerik** a peroxiszómális fehérjék **szignálszekvenciái**t. A felvételért felelős szignálszekvenciáknak két típusát különböztetjük meg. A **PTS1** szekvenciák (Peroxisomal Targeting Sequence) az érett fehérjében is meglévő, annak **C-terminálisa közelében található** háromtagú (egy kis, töltetlen, egy pozitív töltésű és egy hidrofób aminosavból álló) peptidek. A **PTS2** szekvenciák az **N-terminálisontalálható**, 8 tagú peptidek, melyek jellemző szekvenciája RL/I/Q-X5-H/QL). A PTS2 a transzport során lehasadó szekvencia.

A peroxiszómás fehérjéket a **citoszólban** található **receptorok** ismerik fel. A PTS1 receptora a **PEX5** komplex fehérje, mely képes a membránhoz kötődni, míg a PTS2 szignálú fehérjéket felismerő receptor, a **PEX7** csak a PEX5 segítségével kapcsolódik a peroxiszóma membránjához. A kötődést követően a PEX5 más fehérjékkel együtt viszonylag **nagyméretű (9 nm) pórust képez a membránon**, melyen át több alegységből álló **oligomer fehérjék** és nagyobb stabil részecskék (pl. PTS1 proteinhez kötött aranyszemcsék) is **átjuthatnak**. Ez lehetővé teszi, hogy

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

PTS-szignállal nem rendelkező citoszól fehérjék is bejussanak a peroxiszómába, ha kapcsolódnak a szignállal rendelkező fehérjékkel. A PEX5 és PEX7 receptorok reciklizációja, visszajutása a citoszólba segédfehérjéket, ún peroxinokat (pl. Pex2p, Pex10p, Pex12p9) valamint a PEX5 monoubiquitinációját igénylő folyamat, melyhez ATP energiája szükséges.

A növényi peroxiszómákat határoló membránok integráns fehérjéi **az endomembrán rendszeren** (l. később) **keresztül** is bekerülhetnek a peroxiszómákba.

9.8.5. Fehérjetranszport a sejtmagba

Az interfázisos eukarióta sejtmagot két membrán és a membránok között lévő perinukleáris tér határolja el a citoplazmától. A külső membrán a citoplazma felé néz és összeköttetésben van az endoplazmatikus retikulummal (ER). Ennek következtében a perinukleáris tér is folytonos az endoplazmatikus retikulum lumene felé. A külső membrán felszínén a durva felszínű ER-hez hasonlóan esetenként riboszómák találhatók. A belső membrán nukleoplazma felé néző belső felszíne a lamina filamentumszerű fehérjéivel borított. A lamina a magmembrán általános vázát alkotja és az interfázisú kromatin kapcsolódását biztosítja. A két membrán fúziós helyeinél (pórusmembrán) találhatók azok a **szupramolekuláris komplexek,** melyek **pórust alkotva** (NPC = Nuclear Pore Complex) **kétirányú anyagmozgást tesznek lehetővé a citoplazma és a mag** között.

A sejtmag membránján át számos makromolekula (fehérjék, nukleinsavak), valamint ezek komplexeinek (snRNP komplex, riboszomális alegységek, oligomer fehérjék stb.) szállítása történik mindkét irányban. A nagyméretű, esetenként kémiai szempontból is különböző molekulákból felépülő komplexek fehérjéi specifikus, a sejtmagba szállításért felelős szignálszekvenciákkal rendelkeznek. A szignálok felismerését és a transzportot a pórusok morfológiai komplexitása és az őket felépítő nagyszámú fehérjemolekula biztosítja. Ez a fejezet csak a fehérjék transzportját tárgyalja.

9.8.5.1. A sejtmagba történő transzportért felelős szignálszekvenciák

A sejtmagba történő transzportért felelős **szignálszekvenciák** (NLS: Nuclear Localization Signals) olyan rövid peptidszakaszai a sejtmagban funkciót betöltő fehérjéknek, melyek nem hasadnak le a fehérjék transzportja után, tehát az érett fehérjében is megtalálhatók. A **nem lehasadó szignál** nagyon fontos jellemzője a magfehérjéknek, mivel lehetővé teszi a fehérjék oda-visssza szállítását, ami a sejtmag működése során feltétlenül szükséges. Az eukarióták NLS szekvenciáira jellemző a bázikus aminosavak (lizin, arginin) magas aránya, ill. ezek mellett olyan aminosavak jelenléte, melyek megtörik a helikális felszíneket (pl. prolin). Noha a sejtmagfehérjéket (nukleoplazminokat) meghatározó lokalizációs szignáloknak nincs szigorúan megszabott aminosavsorrendje, a fenti általános sajátságokon kívüli egyéb jellemzőik alapján három csoportba oszthatók.

1. Az SV 40 típusú szignál egy szakaszból álló, prolint és bázikus aminosavakat tartalmazó, tíznél kisebb aminosavszámú peptid.

2. A szignálok másik csoportja két részből áll: a bázikus aminosavakból álló peptideket mintegy tíztagú spacer választja el egymástól.

3. A harmadik csoport, az élesztő egyik fehérjéjéről elnevezett Mat α2 típusú szignál, a bázikus aminosavakon kívül egy vagy két hidrofób aminosavat is tartalmaz. A szignálok mindhárom csoportját megtalálták növényeknél is. Az egyes fehérjéknek néha több, különböző típusú szignáljuk van.

A növények saját fehérjéin kívül olyan különböző növényi betegségeket okozó patogén szervezetek fehérjéi is tartalmaznak a sejtmagba jutásért felelős jelszekvenciákat, mely patogének DNS-e vagy RNS-e bekerül a sejtmagba. (A nukleinsavak ugyanis fehérjékkel asszociált formában szállítódnak.) Az *Agrobacterium* T-DNS-ét, mely fehérjébe burkolt egyfonalas lineáris DNS formájában jut be a növényi sejtmagba, olyan, a baktérium T_i plazmidjának Vir régiója által kódolt fehérje (VirE2) juttatja be, melynek a második csoportba tartozó (kettős) maglokalizációs szignálja van. A növényi vírusok fehérjéi (pl. a potyvírus NIa és NIb) is kettős NLS szekvenciával rendelkeznek.

9.8.5.2. A pórus szerkezete

A külső és belső membrán fúziós helyeinél található pórusok a **nukleoporinok**ból, a sejtmag póruskomplexének (NPC: Nuclear Pore Complex) fehérjéiből felépülő dinamikus struktúrák, melyek a mitózist megelőzően lebomlanak,

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

a mitózis befejeződése után pedig újraépülnek. A pórust felépítő szupramolekuláris komplex 124 MDa molekulatömegű és egy **citoplazmás és** egy **nukleoplazmás gyűrűből** áll. A gyűrűkből nyolc kar (küllő) nyúlik a központi csatorna felé. A küllők 8 kisebb csatorna létrejöttét eredményezik, melyeken át az ionok és a kisebb molekulák szabadon diffundálnak. A **központi csatorna** 26 nm átmérőjű, melyen át a fehérjék és a nukleinsavak szállítódnak szintén szabályozott módon. A citoplazmás gyűrűből fibrillumok nyúlnak a citoplazma felé, a nukleoplazmás gyűrűhöz pedig egy kosárszerű struktúra kapcsolódik a nukleoplazmás oldalon. A sejtmag póruskomplexe mintegy 100 fehérjéből áll.

9.8.5.3. A sejtmagba irányuló transzport mechanizmusa

A fehérjék transzportja a sejtmagba két lépésből álló folyamat, melynek első, energiát nem igénylő lépése a fehérje megkötődése a magmembrán felszínén a pórus közelében. A második, energiaigényes lépés a fehérje transzlokációja a póruson át. A folyamat szelektív és citoszól faktorok, valamint a hsc70 családba tartozó chaperonok szükségesek hozzá. A maglokalizációs szignállal rendelkező fehérjék megkötésében szerepet játszó receptorok a filamentumokban lokalizált glükoproteinek. A citoszól faktorok között pedig megtalálhatók a kis GTP-kötő és GTPáz aktív fehérjék (Ran fehérjék) valamint az importinok.

A fehérjetranszport mechanizmusa a következő:

1. A fehérje-receptor komplex megkötődik a pórus komplex valamelyik perifériás komponensén (pl. a citoplazmás gyűrűn vagy a citoplazmás filamentumon).

2. Erről a perifériás kötőhelyről a protein-receptor komplex a központi csatorna komplex fehérjéjére adódik át.

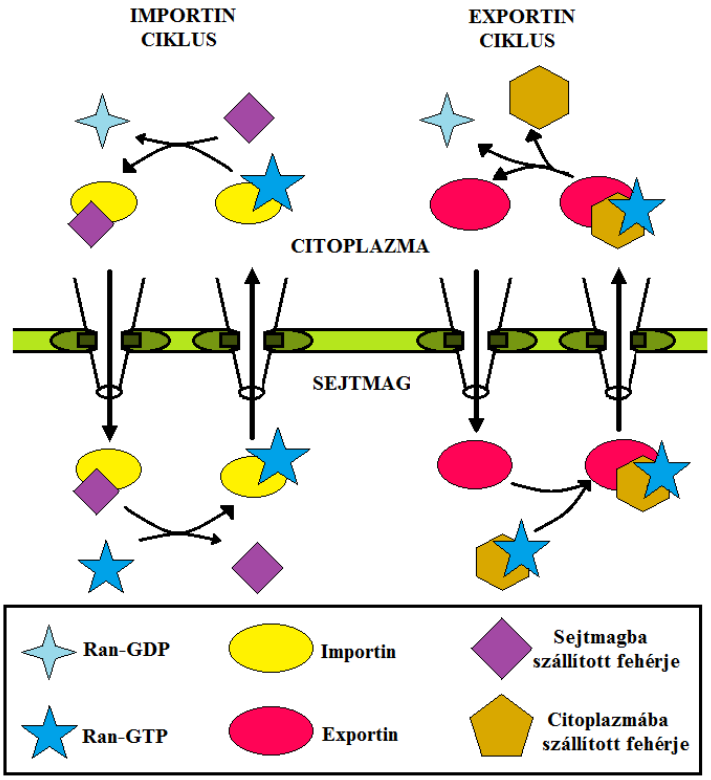
3. A következő lépés a központi csatorna kinyílása, mely a szállítandó protein-receptor komplex méreteitől függően történik és energiaigényes folyamat.

4. A sejtmagba történő transzport után a fehérje-receptor komplex disszociál és a receptorok reciklizálnak. A receptor és a szállított fehérje disszociáltatása, valamint a receptorok reciklizálása Ran fehérjék segítségével történik, melyeknek GTP-t, ill. GDP-t kötő formái határozzák meg a szállított fehérjék transzportjának irányát.

5. A fehérje-receptor komplexhez kötődő RanGTP a sejtmagban előidézi a szállított fehérje disszociációját a receptorról.

6. A fehérjék kiszállítása a magból az export receptor-RanGTP-hez kötött komplexe formájában történik. A citoplazmában a GTP hidrolizál és a komplex felbomlik. A RanGDP ezután ismét bejut a sejtmagba. A nukleuszban a RanGDP újra foszforilálódik RanGTP-vé és a folyamat megismétlődik (9.14 ábra).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



9.14. ábra A fehérjék nukleocitoplazmás transzportja.

9.8.6. Szekréciós fehérjetranszport

A **szekréciós apparátus kiterjedt endomembrán rendszer**, melynek részei a sejtmag membránjával összefüggő **endoplazmatikus retikulum** (ER), a **Golgi-apparátus**, a **transz-Golgi hálózat** (TGN = Trans-Golgi Network), ill. a TGN-nel fizikai kapcsolatban lévő, morfológiailag is hasonló felépítésű, de nem a szekrécióban, hanem főként az endocitózisban résztvevő **részlegesen burkos retikulum** (PCR = Partially Coated Reticulum), a **vakuólum** és a **plazmamembrán**, valamint a rendszer részei közötti transzportot közvetítő **vezikulumok**.

A fehérjék útja a szekréciós rendszeren át a következő: a szintetizálódó fehérjék már a transzláció során (kotranszlációsan) bejutnak az endoplazmatikus retikulumba, ahol módosulási, érési és minőségellenőrzési folyamatokon esnek át (szignálpeptid-lehasadás, glikozilálódás, diszulfid hidak kialakulása, térszerkezet kialakulása, quality control). Ezután transzportálódnak a Golgi-apparátus cisz-, innen tovább a középső, majd a transz-felszíne felé, miközben újabb módosulásokat szenvednek. A transz-Golgi hálózatból a fehérjék a sejt felszínére vagy a tonoplasztba és a vakuólumba juthatnak tovább (9.10. ábra).

Az említett fő szekréciós útnak speciális sejtekben elágazási pontjai lehetnek. A Golgi-apparátus megkerülésével közvetlenül az endoplazmatikus retikulumból képződhetnek fehérjéket raktározó proteintestek (*protein body*) és olajtestek (*oil body* vagy oleoszóma).

A vezikuláris transzport nem egyirányú az endoplazmatikus retikulumtól a plazmalemma, ill. a vakuólum felé, mivel ezen az ún. *anterográd* transzporton kívül létezik egy visszafelé irányuló (*retrográd*) vezikuláris transzport.

A vázolt exocitotikus úton kívül növényeknél is működik komplex endocitotikus transzport. Az endocitotikus és a retrográd transzportban morfológiailag és fiziológiailag is eltérő vezikulumok vesznek részt, melyek a részlegesen burkos vezikulumok, a Golgi-apparátus, vagy - multivezikuláris testek közvetítésével - a vakuólum felé, a retrográd transzportban pedig a transz-Golgi hálózatból az endoplazmatikus retikulum felé szállítják a fehérjéket.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

9.8.6.1. A szekréciós fehérjék szignálszekvenciái

A szekréciós úton transzportálódó oldható és membránfehérjék az endoplazmatikus retikulumhoz kötött riboszómákon szintetizálódnak és elsőként az ER lumenébe kerülnek be. A szekréciós transzporthoz a fehérjéknek olyan szignálpeptiddel kell rendelkezniük, mely lehetővé teszi, hogy az endoplazmatikus retikulumba bekerüljenek és a szekréciós úton szállítódjanak. A szekréciós úton szállítódó fehérjéket lokalizációjuk (és egyben szignáljaik) alapján két csoportra oszthatjuk:

1. a szekréciós út membránrendszerei által határolt belső terekben (ER-lumen, Golgi ciszternák stb.) lokalizált vagy szállítódó oldható fehérjékre és

2. magukban a membránokban lokalizált integráns fehérjékre.

Az oldható fehérjék szignálpeptidje 20–50 aminosavból álló jelszekvencia, mely a fehérje N-terminálisán található és három szerkezeti egységből épül fel. Az N-terminális régiója mintegy 20 aminosav hosszúságú, pozitív töltésű aminosavakból áll, a középső hidrofób régiója 7–16 aminosav hosszúságú és legalább 6 hidrofób aminosavat tartalmaz egymás után, végül a hasítási helyhez legközelebb található a C-régió, mely a hasítási hely előtt háromtagú konzervatív szekvenciát tartalmaz.

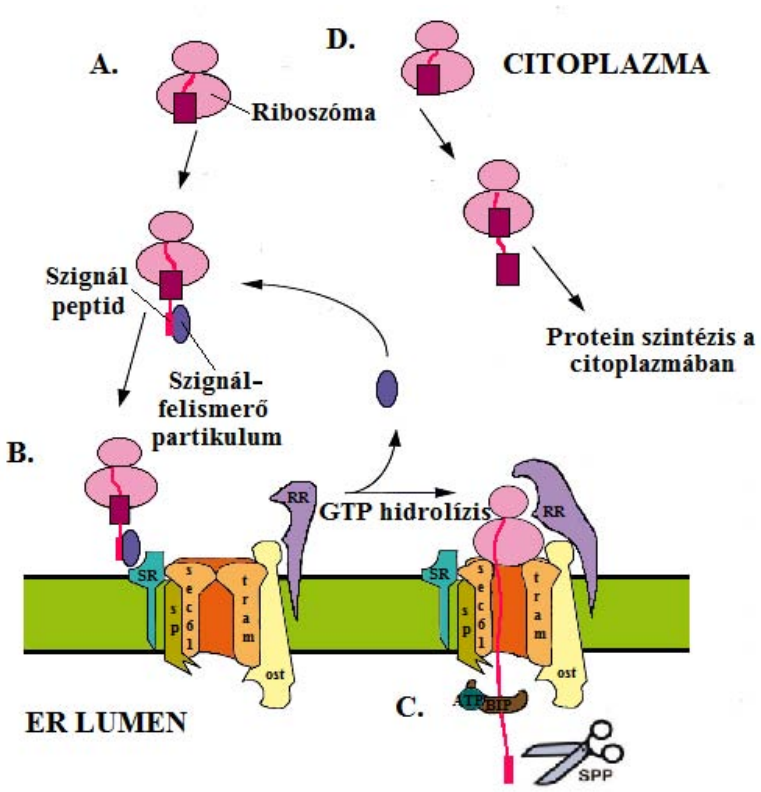
Az oldható fehérjéktől eltérően a szekréciós membránrendszer integráns fehérjéi nem mindig rendelkeznek lehasadó szignálszekvenciával. Található viszont bennük egy vagy több hidrofób aminosavakból álló transzmembrán domén, mely a membránhoz kötődésért felelős, de egyben szignálként is szerepel.

9.8.6.2. A fehérjék bejutása az endoplazmatikus retikulumba

A citoszólban található riboszómákon szintetizálódó fehérjék az első 60–70 aminosavból álló peptid elkészülte után kapcsolatba lépnek egy protein komplexszel (NAC = nascent associated polypeptide complex), mellyel az ER-be jutásért felelős szignálpeptiddel nem rendelkező fehérjék kapcsolatban is maradnak a polipeptid lánc elkészültéig (9.15.D ábra). A szignálpeptidet tartalmazó fehérjékben a jelszekvencia lehetővé teszi a preprotein kölcsönhatását a citoszólban található, RNS-ből és fehérjékből álló szignálfelismerő partikulummal. A szignálfelismerő partikulum kötődik a szignálpeptidhez, miközben a transzláció átmenetileg leáll.

A komplex ezután az endoplazmatikus retikulum membránjában található receptorhoz (SR receptor) kötődik (9.15.B ábra), mely része a membrán transzlokációs komplexnek (transzlokon). A folyamathoz GTP hidrolízise szükséges, valamint az SRP konformációváltozásai, melyek során leválik a szignálpeptidről, miközben az a transzlokon riboszóma receptorára (RR) adódik át (9.15.C ábra). A membrán transzlokációs komplex tartalmazza ezen kívül a pórust alkotó fehérjéket (sec 61 és TRAM = Translocating Chain Associated Membrane Protein), a szignálpeptidázt (SP) és egy oligoszacharid transzferázt (OST). A szignálfelismerő partikulum-riboszóma komplex receptorhoz kötődését követő GTP hidrolízis után a sec 61 komplex és a TRAM fehérjék konformációváltozása lehetővé teszi a pórus kinyílását, a naszcensz fehérje transzlokációját, és a fehérje szintézise folytatódik (9.15. ábra). Még a teljes lánc megszintetizálása előtt lehasad a szignálpeptid a fehérjéhez kötődő BiP (Binding Protein) chaperon és a szignálpeptidáz (SPP) segítségével.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



9.15. ábra A szekréciós transzportban részt vevő fehérjéket szintetizáló riboszómák kapcsolódása az endoplazmatikus retikulum felszínéhez, a fehérje transzportja transzlokációs komplex segítségével.

9.8.6.3. A fehérjék kotranszlációs és transzláció utáni módosulásai az endoplazmatikus retikulumban

A szignálpeptid kotranszlációs lehasadásán kívül a fehérjék egyéb módosulásokat is szenvednek, melyek részben kovalens módosulások (pl. glükozilálódás, ill. molekulán belüli és molekulák közötti diszulfid hidak kialakulása), részben pedig a fehérjék szekunder és tercier struktúrájának kialakulása és oligomerizáció. A szekréciós úton szállítódó fehérjék nagyszámú enzim és chaperon közreműködésével érési folyamaton mennek át, ezek következtében válnak alkalmassá a további transzportra.

Az endoplazmatikus retikulumban a fehérjék glükozilációja és a diszulfid hidak kialakulása is a transzlokációkor történik meg. A glükoziláció során a főleg mannóz egységekből felépülő, de glükózt és galaktózt is tartalmazó glükánok N-, vagy O-glükozidokat képeznek a fehérjék speciális helyein lévő aminosavakkal. A diszulfid hidak kialakításáért és molekulán belüli átrendezéséért a protein diszulfid izomerázok (PDI) felelősek, melyek elősegítik a fehérje térszerkezetének kialakulását és stabilizálását. A fehérjék térszerkezetének kialakításáért felelős egyéb chaperonok pl.a calreticulin és a calnexin is kapcsolódik a transzlokációs komplexhez és szerepet játszanak a funkcionális fehérjék kialakításában.

A pontos térszerkezet kialakulása előfeltétele annak, hogy a fehérje tovább tudjon szállítódni a szekréciós rendszeren át. A hibás fehérjéket a sejt egy minőségellenőrzés (quality control) során az ER-hez kapcsolt degradációs komplex (ERAD = ER Associated Degradation complex) segítségével, vagy a szekréciós rendszer egyéb részeiben eliminálja.

9.8.6.4. Az endoplazmatikus retikulumban maradó fehérjék kiválasztása, a retenciós szignál

Az endoplazmatikus retikulum az endomembrán rendszer legnagyobb organelluma, kiterjedt membránrendszerből és az ezek által határolt lumenből áll. Az ER strukturálisan kétféle; sima felszínű (Smooth ER=SER) és riboszómákat hordozó durva felszínű (Rough ER=RER) membránrendszerből áll, melyek egymással kapcsolatban vannak, és

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

fehérjéik is hasonlók. Nyilvánvaló azonban, hogy bizonyos fehérjék (pl. a riboszómákon szintetizálódó fehérjék transzportjában részt vevő sec61 komplex) kizárólag a durva felszínű ER-ben lokalizáltak.

Az endoplazmatikus retikulum saját fehérjéi a retikuloplazminok, melyek az ER membránban vagy a lumenben találhatók. A retikuloplazminok a durva felszínű ER-hez kötődő riboszómákon szintetizálódó fehérjék érésében, illetve megfelelő térszerkezetének kialakításában és transzportjában játszanak szerepet. (Ilyen fehérjék pl. a már említett calnexin és calreticulin, a BiP kötőfehérje, vagy a foldázok, pl. a protein diszulfid izomeráz és egyéb érési enzimek.)

A növényi sejtek konstitutív módon szekretálnak fehérjéket. Ez azt jelenti, hogy a szintetizált fehérjék nem raktározódnak organellumokban, hanem az ER-től a Golgin át a sejt felszíne felé transzportálódva folyamatosan kilépnek a sejtből (*default pathway*). Minden olyan fehérje ezt az utat követi, amely semmiféle, a rendeltetési helyét meghatározó szignálszekvenciával nem rendelkezik. Ahhoz, hogy a fehérje valamely kompartmentben maradjon, speciális jelszekvenciá(k)ra van szüksége, melynek segítségével visszatartódik az adott kompartmentben és nem követi végig a *default pathway*t.

Az ER-ben maradó fehérjék tartalmaznak egy retenciós szignált, mely az oldható fehérjék esetében egy 4 aminosavból álló peptid a fehérje C-terminálisán. A retenciós szignál szekvenciája növényeknél KDEL (pl.auxin-kötő fehérje vagy a diszulfid izomeráz) vagy HDEL (retikuloplazminok). Az ER integráns membránfehérjéi tartalmaznak egy, általában hattagú retenciós szekvenciát, mely szintén a C-terminálison található. Ezt kevésbé ismerjük, mint az oldható fehérjék retenciós szignálját. A szekvenciára jellemző, hogy a 3. és 4. aminosava lizin.

9.8.6.5. Vezikuláris fehérjetranszport a szekréciós út kompartmentjei között

Az endoplazmatikus retikulumban a módosított, pontosan hajtogatott fehérjék vezikulumokba csomagolódnak, melyek az ER membránból sarjadnak ki és válnak le, majd a citoszólon át a Golgi-apparátusba, vagy közvetlenül a vakuólumba, vagy a sejt felszínére kerülnek. Ugyancsak vezikulumok közvetítenek a Golgi-apparátus részei, valamint az exocitotikus és endocitotikus apparátus kompartmentjei között. A vezikulumok képződésekor citoszól fehérjékből burok képződik a vezikulum felszínén.

A fehérjeburok szerkezete alapján kétféle transzportvezikulumot különböztetünk meg: a klatrinburkos és a nem-klatrinburkos vezikulumokat. Az elsőként felfedezett klatrinburkos vezikulumok a transz-Golgi hálózat (TGN) és a vakuólum közötti transzportban, valamint az endocitózisban vesznek részt.

A burkos vezikulumok másik csoportját a nem-klatrinburkos, ún. *coat protein*ekkel (COP) borított vezikulumok alkotják, melyek kétféle, COP I, COP II típusú burokkal rendelkezhetnek. A COP I típusú vezikulumok a Golgi-készülék részei közötti retrográd, a COP II típusú vezikulumok az endoplazmatikus retikulum és a Golgi-apparátus közötti anterográd transzportban vesznek részt.

9.8.6.6. A növényi Golgi-apparátus funkcionális kompartmentációja

A szekréciós rendszer alapvetően azonos felépítésű eukariótáknál, azonban a növényi, az emlős és az élesztősejtek endomembrán rendszerei között mofológiai és funkcionális különbségek vannak. A nagyszámú, de kisméretű, szétszórtan elhelyezkedő ciszternákból álló növényi Golgi-készülék nemcsak a szekréciós fehérjék transzportjában, és azok további módosításában, hanem a nem-cellulóz sejtfal-poliszaharidok és lipidek szintézisében is szerepet játszik. A glükoproteinek szintézisét és módosításait végző glükozidázok és glükozil-transzferázok a Golgi-apparátus különböző szakaszaiban lokalizáltak. Miközben a fehérjék végighaladnak a Golgi-készüléken, nemcsak módosulásokat szenvednek, hanem minden egyes transzportlépésnél elválasztódnak azoktól a fehérjéktől, melyeknek az adott kompartment az úticélja. A Golgi-apparátusban maradó membránfehérjék retenciójához szükséges szignál egy transzmembrán domén, melynek állatoknál inkább a hossza, semmint a szekvenciája bizonyult meghatározónak. A rövidebb transzmembrán doménú fehérjék tudnak csak visszatartódni a Golgi-készülék vékonyabb membránjában, míg a hosszabb transzmembrán felszínnel rendelkezők továbbszállítódnak. A Golgi-apparátus legutolsó állomásán, a transz-Golgi hálózatban történik a fehérjék további osztályozása és vezikulumokba csomagolása a sejt felszíne és a vakuólum felé irányuló transzporthoz. (9.10. ábra)

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

9.8.6.7. Vezikulum-közvetített transzport a transz-Golgi hálózat és a vakuólum, valamint a transz-Golgi hálózat és a plazmalemma között

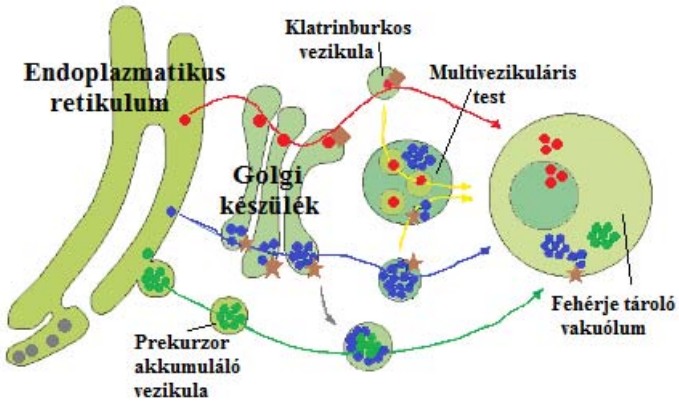
A transz-Golgi hálózat és a vakuólum, valamint a plazmalemma közötti exocitotikus transzportot (és a sejtfelszín felől az organellumok felé irányuló endocitotikus transzportot is) a burkos vezikulumok másik csoportját képviselő **klatrinburkos vezikulumok** közvetítik. Az exocitotikus és az endocitotikus transzport valószínűleg a transz-Golgi hálózatban találkozik.

A klatrinburok két komplexből épül fel állatoknál: a három könnyű és egy nehéz láncból álló klatrinból és az AP (Assembly Protein) komplexből.

A vakuoláris transzporthoz a fehérjéknek megfelelő jelszekvenciával (targeting signal) kell rendelkezniük. Ezeket ismerik fel a transz-Golgi hálózat membránjában lokalizált receptorok. A fehérje kötődése a receptorához olyan jelközvetítő láncolatot indít el, amelyben számos fehérje vesz részt, és amelynek végeredményeként kialakul a klatrinburkos vezikulum. A vezikulumok fúziója a vakuólum membránjával, a tonoplaszttal, hasonló módon történik, mint a nem-klatrinburkos vezikulumok fúziója célmembránjaikkal. A folyamatban részt vevő nem specifikus fúziós fehérjék is azonosak.

A fehérjék vakuoláris transzportját meghatározó **jelszekvenciák nem egységesek**. Ez következhet a vakuólumok többféle funkciójából (litikus, ill. raktározó kompartment) és egyben utal arra, hogy a különböző fehérjék vakuoláris transzportmechanizmusa is különbözik. Háromfél**e** vakuoláris jelszekvenciát sikerült kimutatni, melyek láncközben, vagy a fehérjék N- és C-terminálisán találhatók. Az N-terminálison lévő szignálok közös motívuma az Asn-Pro-Ile-Arg (NTPP) tetrapeptid. A C-terminálison található eddig vizsgált szignáloknak nincs közös szekvenciarészletük, de többnyire negatív töltésüek, rövid hidrofób szakaszuk van, és a végükön metionin vagy más hosszú oldalláncú aminosav található. A végeken található szignálokat a vakuoláris endopeptidázok lehasítják a transzport befejeztével. A C-terminális kialakításában karboxipetidázok is részt vesznek.

A növényi vakuólumok fontos szerepet játszanak a fehérjék lebontásában. A fehérjék lebontó sejtpartikulumba való bejutásának egyik módja az autofágia. Növényeknél **intracelluláris autofágia** lehetséges akár nagyobb kompartmentek (plasztisz, mitokondrium, peroxiszóma) lebontása, vagy pl. a raktározó fehérjetestek képződése során.



9.16. ábra A szekréciós fehérjetranszport kompartmentjei , lehetséges útvonalai

9.8.6.8. A szekréciós fehérjetranszport elágazásai: raktározó fehérjetestek és oleoszómák képződése

A raktározó fehérjetestek képződése

A növényi magvak, a sziklevelek vagy az endospermium raktározott fehérjéket tartalmaznak, melyek proteintestekben tárolódnak. A raktározott fehérjék az endoplazmatikus retikulumhoz kötött riboszómákon szintetizálódnak és

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

ugyanúgy jutnak be az ER-be, mint a többi szekréciós fehérje. További transzportjuk azonban elágazhat a szekréciós fehérjetranszporttól, és a végállomást jelentő fehérjetestek a fehérje típusától és a növénytől függően különböző módokon képződnek. A raktározott fehérjék oldhatóságuk alapján három csoportba oszthatók: az **albuminok** vízben, a **globulinok** híg sóoldatban, a **prolaminok** alkohol és víz elegyében oldódnak. A prolaminok csak a fűfélékre jellemzők, az albuminok és a globulinok azonban a növények számos csoportjában fő raktározott fehérjék (pl. pillangósok, olajosmagvúak, néhány gabonaféle).

A **prolaminokat tartalmazó proteintestek** képződhetnek **közvetlenül az endoplazmatikus retikulumból**. A folyamat úgy játszódik le, hogy az ER-be bejutott prolaminok visszatartódnak, aggregálódnak és felhalmozódnak az endoplazmatikus retikulum lumenében. Az ER megduzzadó végei alkotják a proteintesteket, melyek kapcsolatban maradnak az endoplazmatikus retikulummal (9.16. ábra). Kukoricában és rizsben mutattak ki ilyen proteintest-képződést. Búzára prolaminok felhalmozódása szintén proteintestek képződésével kezdődik az endoplazmatikus retikulumban. Az ER ezt követően szétesik, és a proteintesteket elektronszóró membránokból felépülő autofág vezikulumok kebelezik be. A folyamat eredményeként **proteinraktározó vakuólumok** képződnek. Képződhetnek prolamint raktározó proteintestek a **hagyományos szekréciós úton** is, melynek során a fehérje áthalad a Golgi-apparátuson és bejut a vakuólumba. Ezt az utat több gabonaféléből is kimutatták.

A víz- és sóoldékony tartalékfehérjéket raktározó proteintestek képződése szintén a fő szekréciós úton való áthaladással történik. Szintézisük befejeződése után a tartalékfehérjék továbbszállítódnak az endoplazmatikus retikulumból a Golgi apparátusba, ahol elválasztódnak a többi szekréciós fehérjétől vakuoláris jelszekvenciájuk alapján, majd bejutnak már meglévő vakuólumokba. Ezek a vakuólumok alakulnak át proteintestekké (9.16. ábra).

Az oleoszómák képződése

A magvak gyakran raktároznak lipideket, melyek kis, **egyrétegű foszfolipid membránnal** (fél unitmembránnal) **borított** olajtestek (oleoszómák) formájában találhatók a citoplazmában. Kevés kivételtől eltekintve (pl. a viaszésztereket raktározó jojoba), a raktározott lipidek triacilglicerolok. A lipázok számára könnyen hozzáférhető, nagy felületet biztosító, egymással nem aggregálódó oleoszóma struktúra fenntartását az olajtestek speciális fehérjéi, az oleozinok biztosítják. Az oleoszómák képződése is közvetlenül az endoplazmatikus retikulumból történik vezikulációval. A kloroplasztiszban szintetizálódó zsírsavakból az endoplazmatikus retikulumban képződnek a triacilglicerolok és az ER kétrétegű foszfolipid membránjának (unitmembrán) rétegei között halmozódnak fel. Az ER-hez kötött riboszómákon szintetizálódó **oleozinok** be sem jutnak az endoplazmatikus retikulumba, hanem - hosszú hidrofób szakaszuk miatt - az ER leghidrofóbabb helyére, a membránrétegek közé kerülnek, ahol a triacilglicerolok felhalmozódtak.A felgyülemlett triacilglicerol massza, felszínén az ER-ből származó egyrétegű foszfolipid membránnal és a mindkettőhöz kapcsolódó oleozinnal, leválik az endoplazmatikus retikulumról, kialakítva az oleoszómát.

9.8.7. Fehérjetranszport a sejtfelszíntől az intracelluláris kompartmentek felé: endocitózis

A sejt felszínére irányuló vezikulum-közvetített szekréciós transzport miatt nagy mennyiségű membrán érkezik a plazmalemmához. Ezért az egyensúly fenntartása érdekében szükség van a membránok folyamatos visszajuttatására (internalizációjára) a sejt belsejébe. A **plazmamembrán internalizációja** a membrán kitüntetett helyein történik, **klatrin- és nem-klatrinburkos öblök** (kaveolák) képződésével és vezikulációjával. A képződő vezikulumok közvetítik a sejten kívülről érkező különböző anyagok (fehérjék, hormonok, vitaminok, stb.) endocitotikus és makropinocitotikus felvételét is. Ugyanúgy, mint a default pathway a fehérjék vezikuláris transzportjában, a plazmamembrán-befűződés (invagináció) és **vezikulumképződés** is **konstitutív** folyamat, mely receptorok és ligandumfelvétel nélkül is folyamatosan végbemegy. Ilyen módon a membrán állandóan újraépül.

Növényeknél az endocitózis léte sokáig vitatott volt, mert a növényi sejtekben fennálló turgornyomás ellene hat a membrán invaginációnak. Mivel a növényekben az extracelluláris fehérjetranszporton kívül a Golgi-készülékben szintetizálódó sejtfal poliszaharidok transzportja is vezikulumok segítségével történik, a nagymértékű membránkiáramlás miatt a növényi sejteknek is szükségük van membrán internalizációra. Szekréciógátolt sejtekben a membránhoz érkező vezikulumok mennyiségéből kiszámították, hogy a növényi sejtnek teljes plazmamembrán tömegével azonos mennyiségű membránt kell endocitálnia 10–180 perc alatt a növekedési sebességétől függően.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Az endocitózisra jellemző morfológiai képződmények (burkos öblök és vezikulumok, részlegesen burkos reticulum, multivezikuláris testek) jelenléte és fiziológiai bizonyítékok (lektinek, elicitorok, fehérje-vitamin konjugátumok, ferritin bejutása a sejtekbe) alapján bizonyított, hogy endocitózis a növényi sejtekben is létezik.

A **receptor-közvetített endocitózis** első lépése a fehérje (vagy más ligandum) kötődése plazmamembrán receptorával. A burkos öböl (coated pit) és **vezikulumképződés** is hasonló az állati sejtekben megfigyelhetőhöz. A burok fő alkotóelemének, a klatrinnak a nehéz lánca növényeknél nagyobb molekulatömegű. A citoplazmában a vezikulum gyorsan elveszti burkát, majd beolvad a Golgi-apparátussal összefüggő **részlegesen burkos retikulum**ba. Azután a sejt típusától és növekedési sebességétől függően vagy **reciklizál a Trans-Golgi-készüléken** (TGN) át a **plazmamembránhoz**, vagy a részlegesen burkos retikulumból hiányos, helyenként klatrinburkos membránnal borított **multivezikuláris test** (MVB-= Multivesicular Body) képződik. A multivezikuláris test, mely átmeneti organellum, a parciálisan burkos retikulum és a vakuólum közötti transzportot közvetíti, tehát innen a fehérjék nem reciklizálnak, hanem lebontásra kerülnek.

9.9. Irodalomjegyzék

Algire M. A., Lorsch, J. R.	Where to begin? The mechanism of translation initiation codon selection in eukaryotes.	Current Opin. Chem. Biol., 10, 480–486, 2006.
Ambrogelly, A., Palioura, S., Söll, D.	Natural expansion of the genetic code.	Nat. Chem. Biol., 3, 29-35, 2007.
Barkan, A.	Expression of Plastid Genes: Organelle-Specific Elaborations on a Prokaryotic Scaffold.	Plant Physiol., 155, 1520-1532, 2011.
Bassham, D. C., Raikhel, N.	Unique features of the plant vacuolar sorting machinery.	Current Opin. Cell Biol., 12, 491–495, 2000.
Becker, T., Gebert, M., Pfanner, N., van der Laan, M.	Biogenesis of mitochondrial membrane proteins.	Current Opin. Cell Biol., 21, 484-493, 2009.
Bedard, J., Jarvis, P.	Recognition and envelope translocation of chloroplast preproteins.	J. Exp. Bot., 56, 2287-2320, 2005.
Bibi, E.	The role of the ribosome–translocon complex in translation and assembly of polytopic membrane proteins.	Trends Biochem. Sci., 23, 51-55, 1998.
Bickford, L. C., Mossessova, E., Goldberg, J.	A structural view of the COPII vesicle coat.	Current Opin. Struct. Biol., 14, 147–153, 2004.
Celedon, J. M., Cline, K.	Intra-plastid protein trafficking: How plant cells adapted prokaryotic mechanisms to the eukaryotic condition.	Biochim. Biophys. Acta, 1833, 341–351, 2013.
Chen, X., Irani, N. G., Friml, J.	Clathrin-mediated endocytosis: the gateway into plant cells.	Current Opin. Plant Biol., 14, 674-682, 2011.
Dalbey R. E., Robinson, C.	Protein translocation into and across the bacterial plasma membrane and the plant thylakoid membrane.	Trends Biochem. Sci., 24 , 17-22,1999.
Egea, P. F., Stroud, R. M., Walter, P.	Targeting proteins to membranes: structure of the signal recognition particle.	Current Opin. Structur. Biol., 15, 213–220, 2005.
Flores-Pérez, U., Jarvis, P.	Molecular chaperone involvement in chloroplast protein import.	Biochim. Biophys. Acta,1833, 332-340, 2013.
Green, R., Noller, H. F.	Ribosomes and translation.	Annu. Rev. Biochem. 66, 679–716, 1997.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Gutensohn, M., Fan, E., Frielingsdorf, S., Hanner, P., Hou, B., Hust, B., Klosgen, R. B.	Toc, Tic, Tat et al.: structure and function of protein transport machineries in chloroplasts.	J. Plant Physiol., 163, 333-347, 2006.
Hanton, S. L., Bortolotti, L. E., Renna, L., Stefano, G., Brandizzi, F.	Crossing the Divide - Transport Between the Endoplasmic Reticulum and Golgi Apparatus in Plant.	Traffic, 6, 267-277, 2005.
Hauke, V., Schatz, G.	Import of proteins into mitpchondria and chloroplasts.	Trends Cell Biol. 7, 103–106, 1997.
Heins, L., Collinson, J., Soll, J.	The protein translocation apparatus of chloroplast envelopes.	Trends Plant Sci. 3, 56–60, 1998.
Herman, E. M.	Endoplasmic reticulum bodies: solving the insoluble.	Current Opin. Plant Biol. 11, 672-679, 2008.
Hernandez, G., Altmann, M., Lasko, P.	Origins and evolution of the mechanisms regulating translation initiation in eukaryotes.	Trends Biochem. Sci., 35, 63-73, 2010.
Herr, A. J., Atkins, J. F., Gesteland, R. F.	Coupling of open reading frames by translational bypassing.	Annu. Rev. Biochem., 69, 343-72, 2000.
Hinnebusch, A. G.	eIF3: a versatile scaffold for translation initiation complexes.	Trends Biochem. Sci., 31, 553-562, 2006.
Hu, J., Baker, A., Bartel, B., Linka, N., Mullen, R. T., Reumann, S., Zolman, B. K.	Plant Peroxisomes: Biogenesis and Function.	The Plant Cell, 24, 2279-2303, 2012.
Ki, E., Leung,Y., Suslov, N., Tuttle, N., Sengupta, R., Piccirill, J. A.,I	The Mechanism of Peptidyl Transfer Catalysis by the Ribosome.	Annu. Rev. Biochem. 80, 527-55, 2011.
Mackenzie, S.	Plant organellar protein targeting: a traffic plan still under construction.	Trends in Cell Biol., 15, 548-554, 2005.
Marti, L., Fornaciari, S., Renna, L., Stefano, G., Brandizzi, F.	COPII-mediated traffic in plants.	Trends Plant Sci., 15, 522-528, 2010.
Merkle, T.	Nucleo-cytoplasmic transport of proteins and RNA in plants,	Plant Cell Rep., 30, 153–176, 2011.
Mitra, K., Frank, J.	Ribosome Dynamics: Insights from Atomic Structure Modeling into Cryo-Electron Microscopy Maps.	Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.35, 299–317, 2006.
Mullen, R. T., Flynn, c. R., Trelease, R. N.	How are peroxisomes formed? The role of the endoplasmic reticulum and peroxins.	Trends in Plant Sci., 6, 256-262, 2001.
Nebenführ, A., Staehelin, L. A.	Mobile factories: Golgi dynamics in plant cells.	Trends Plant Sci., 6, 160-167, 2001.
Nebenführ, A.	Vesicle traffic in the endomembrane system: a tale of COPs, Rabs and SNAREs.	Current Opin. Plant Biol. 5, 507–512, 2002.
Neupert, W., Herrmann, M.	Translocation of Proteins into Mitochondria	Annu. Rev. Biochem. 76, 723-749, 2007.
Neupert, W.	A Mitochondrial Odyssey.	Annu. Rev. Biochem. 81, 1–33, 2012.
Noller A, H. F.,Yusupova, M. M., Yusupovaa, G. Z., Baucoma, A., Cate, J. H. D.	Translocation of tRNA during protein synthesis.	FEBS Letters 25815 , 1-6, 2002.
Ogle, J. M., Carter, A. P., Ramakrishnan, V.	Insights into the decoding mechanism from recent ribosome structuresq.	Trends Biochem. Sci., 28, 259-266, 2003.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Petrov, A., Kornberg, G., O'Leary, S., Tsai, A., Uemura, S., Puglisi, J. D.	Dynamics of the translational machinery.	Current Opin. Struct. Biol., 21, 137–145, 2011.
Petry, S., Weixlbaumer, A., Ramakrishnan, V.	Tremination of translation.	Current Opin. Structur. Biol., 18, 70-77, 2008.
Pfeffer, S. R.	Unsolved Mysteries in Membrane Traffic.	Annu. Rev. Biochem., 76, 629-645, 2007.
Pouton, C. W., Wagstaff, K. M., Roth, D. M., Moseley, G. B, Jans, D. A.	Targeted delivery to the nucleus.	C.W. Pouton et al. / Advanced Drug Delivery Reviews 59, 698-717, 2007.
Reyes, C. F., Buono, R., Otegui, M. S.	Plant endosomal trafficking pathways.	Current Opin. Plant Biol.,14, 666–673, 2011.
Robinson, D. G., ., Pimpl, P., Scheuring, D., Stierhof, Y. D., Sturm, S., Viotti, C.	Trying to make sense of retromer.	Trends in Plant Sci., 17, 431-439, 2012.
Schneider, A.	Mitochondrial tRNA Import and Its Consequences for Mitochondrial Translation.	. Annu. Rev. Biochem., 80, 33–53, 2011.
Staehelin, L. A., Kang, B. H.	Nanoscale Architecture of Endoplasmic Reticulum Export Sites and of Golgi Membranes as Determined by Electron Tomography.	Plant Physiol., 147, 1454-1468, 2008.
Steitz, T. A., Moore, P. B.	RNA, the first macromolecular catalyst: the ribosome is a ribozyme.	Trends Biochem. Sci., 28, 411-418, 2003.
Truscott, K. N., Brandner, K., Pfanner, N.	Mechanisms of Protein Import into Mitochondria.	Current Biol., 13, 326-337, 2003.
Vitale A., Raikhel, N. V.	What do proteins need to reach different vacuoles?	Trends in Plant Sci. 4, 149-155, 1999.
Vothknech, U. C., Soll, J.	Chloroplast membrane transport: Interplay of prokaryotic and eukaryotic traits.	Gene, 354, 99-109, 2005.
Welters, P.	Vacuolar targeting: proteins of the transport machinery.	Plant Physiol. Biochem. 34, 229–235, 1996.
Zerges, W	Translation in chloroplasts.	Biochimie, 82, 583−601, 2000.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

10. fejezet - A növényi stressz alapjelenségei

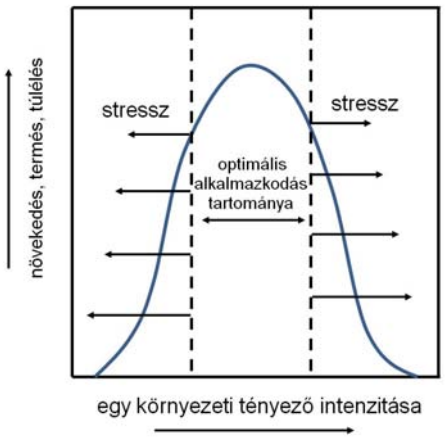
szerző: Dr. Szigeti Zoltán

A növények mindenkori környezetükben sokféle és gyakori olyan terhelésnek vannak kitéve, melyek teljesítményüket, fejlődésüket, szaporodásukat korlátozzák. Bizonyos határok között a növények habitusukkal, anyagcsere-folyamataikkal képesek alkalmazkodni a különleges körülményekhez is. Ezek az alkalmazkodási reakciók azt eredményezik, hogy a növények élőhelyeik változó, akár különleges feltételei közt is képesek növekedni, fejlődni, életüket, fajukat fenntartani.

10.1. Alapfogalmak

10.1.1. A stressz meghatározása

A megterheléssel járó, szinte számtalanul sokféle helyzet leírására – mely helyzetek egy adott szervezetben a normálistól eltérő viselkedéshez vezetnek – a növények esetében is a stressz kifejezést használjuk. Szó szerint véve a stressz különböző nyelveken nyomást, feszültséget, kényszert jelent. A stresszkifejezést először a fizikában alkalmazták egy testben külső erő hatására ébredő belső feszültség jellemzésére. A köznyelvben a stresszt legtöbbször magára a fokozott megterhelésre és az emberben annak következtében fellépő állapotváltozásra használják.



10.1. ábra Az élettani funkciók változása valamely környezeti tényező intenzitásának függvényében

A szervezetben a stresszállapotot a stresszor váltja ki, ami nem más, mint a környezet egy eleme, ami a növény fiziológiájában olyan változást okoz, ami megváltozott környezethez való élettani alkalmazkodást eredményez. A 10.1. ábra valamely élettani funkciónak (pl. növekedés, túlélés, termés) valamely környezeti tényező hatására bekövetkező változását mutatja, jelezve, hogy ha a külső tényező értéke a szervezet számára optimális alkalmazkodás tartományán kívül van, akkor a szervezet stresszállapotba kerül.

Selye (1936) szerint a **stressz a szervezet túlterhelt, túlerőltetett állapota, a test aspecifikus reakciója mindenfajta igénybevétellel szemben**. Növényekre vonatkozóan Larcher (1987) a következőképpen adta meg először a stressz meghatározását: **A stressz egy olyan terheléses állapot, amelyben a növénnyel szembeni fokozott igénybevétel a funkciók kezdeti destabilizációját követően egy normalizálódáson át az ellenállóság fokozódásához vezet, majd a tűréshatár túllépésekor tartós károsodást vagy akár pusztulást is okoz.**

Ma a növényi stresszt úgy definiáljuk, hogy **a stressz az a fiziológiai állapot, amelyben a növények növekedése, fejlődése és szaporodása a környezeti terhelés miatt a genomban meghatározott lehetőségek alatt marad.** A

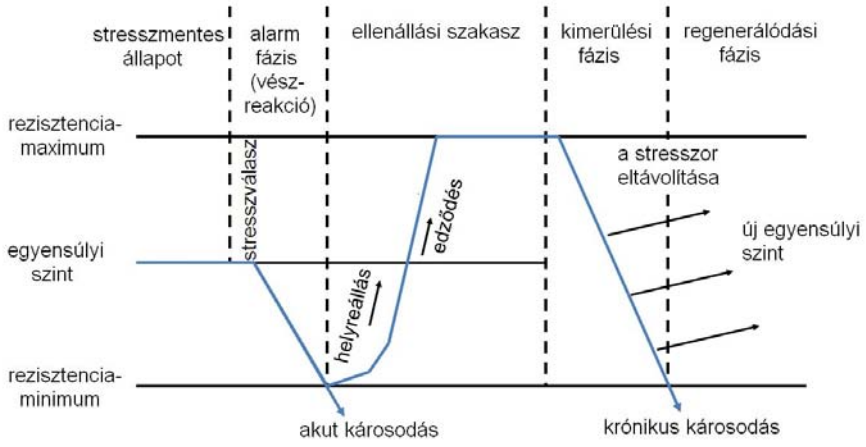
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

meghatározás két elemét kell hangsúlyoznunk. Az egyik az, hogy a stressz az egy **élettani állapot**, amelybe a növény a stresszor hatására kerül. A másik pedig az, hogy a funkciók **a genomban meghatározott értékek alatt** maradnak.

A növényekre ható stresszorokat (stressztényezőket) többféleképpen csoportosíthatjuk. Az egyik szokásos felosztás szerint beszélünk **természetes tényezőkről**, valamint **antropogén faktorokról**. Természetesnek tekintjük a természeti környezet spontán, de hirtelen vagy szélsőséges megváltozásait: a nagy fényintenzitást, a hőhatást, az alacsony hőmérsékletet, a hirtelen fagyot, a szárazságot, az ásványi tápanyag hiányt, a nagy sókoncentrációt stb. Míg antropogén stresszorokként tartjuk számon a herbicideket, a légszennyező anyagokat (kén- és nitrogénoxidok, ózon stb), a savas esőt, a talajsavanyodást, a toxikus nehézfémek feldúsulását a környezetben, a fokozott UV-sugárzást, stb. Másik szempont szerint beszélünk **abiotikus** (abiogén) és **biotikus** (biogén) stressztényezőkről. Ez utóbbiak közé tartoznak a növény parazitái: vírusok, baktériumok, gombák, de ide soroljuk a rovarok, csigák, stb. rágása által okozott sebzéseket is.

10.1.2. A stressz szakaszai

A stresszor hatására a szervezetben lezajló folyamatok egy jellegzetes eseménysort, tünetcsoportot alkotnak, melyeket összefoglalóan stressz szindrómának nevezünk. Egy stressz-szituációban a válaszreakció során az aspecifikus folyamatok sorrendjében három fő fázis ismerhető fel (10.2. ábra). Az első a **vészreakció**, ami a stresszor hatására bekövetkező terhelés fokozódásakor a normális működéstől való eltérésben nyilvánul meg, s aminek következménye a vitalitás csökkenése. Az anyagcsere lebontó jellegű folyamatai dominálnak a szintetizáló, felépítő jellegűek felett. Mindez az ellenállás minimumának elérése, majd túllépése esetén akut károsodáshoz vezet. Ha a növény rezisztencia-potenciálja lehetővé teszi, akkor a helyreálláson, edződésen keresztül bekövetkezik a második fázis, az **ellenállás stádiuma**, amelyben védekező és alkalmazkodási folyamatok eredményeként a növény ismét normális életműködést mutat, sőt funkcionális aktivitása a korábbi standard értéknél magasabb is lehet. Ilyenkor az ellenálló képessége fokozódik, a növény edzettebbé válik (hardening). A harmadik szakasz a **kimerülés**, ami az alkalmazkodó képességet meghaladó tartamú és intenzitású igénybevétel esetén következik be, és fokozatos leromláson át krónikus károsodáshoz, majd a pusztuláshoz vezet. Ha a stresszor hatása, akár a kimerülési fázisban is, megszűnik, a növény képes regenerálódni, melynek eredményeként az adott funkció egy új standard szintre áll be.



10.2. ábra A stressz szindróma

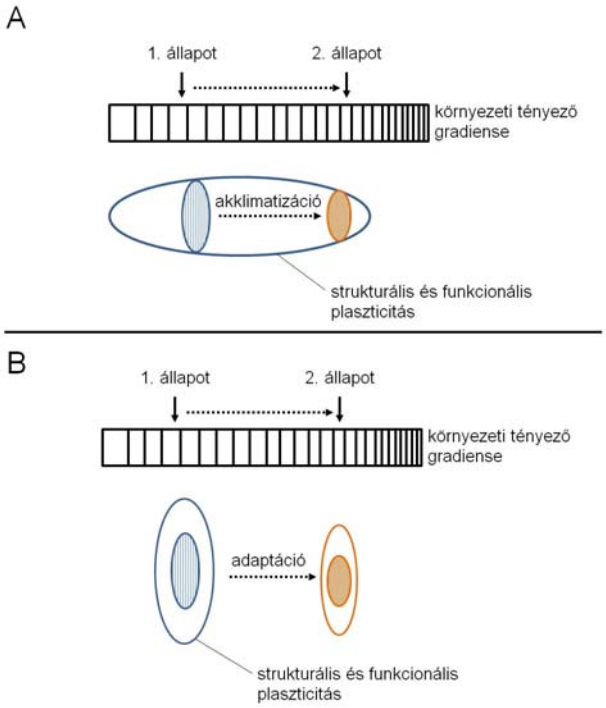
Az egyed életében érvényesülő alkalmazkodást, a túlélést biztosító stresszválaszt **akklimatizációnak** nevezzük, míg a hosszú távon, vagyis több generáció során kialakuló, tartós ellenálló képesség az **adaptáció**révén realizálódik. Az akklimatizáció egy fenotípusos válasz, melynek mértékét a növényegyed fenotípusos plaszticitása határozza meg. Tekintettel a növények többségének helyhez kötöttségére, valamint egy generáció viszonylag hosszú mivoltára, a növényeknél a fenotípusos plaszticitás szerepe lényegesen nagyobb, mint az állatvilágban. Az alkalmazkodó képesség a különböző stresszorokkal szemben lehet nagy, illetve kismértékű. A széles fenotípusos plaszticitással rendelkező növény az egyed életén belül az adott környezeti tényező két – egymástól akár jelentős mértékben

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

különböző – értékéhez akklimatizáció révén képes alkalmazkodni, mert fenotípusos plaszticitása által biztosított strukturális és funkcionális képességei ezt lehetővé teszik. A szűk fenotípusos plaszticitású növényegyedek azonban a változó környezeti tényezőknek csak nagyon szűk tartományában képesek akklimációra, az ilyen egyedek a környezeti tényezők nagymértékű változása esetén elpusztulnak. Az adott populációban a szokásos gyakorisággal (10^{-6}) bekövetkező mutációk közt azonban lehetnek olyanok, melyek a megváltozott külső körülményeket elviselő egyedeket eredményeznek. Ilyen módon ezek, a stresszor hatását túlélni képes növények kerülnek előnybe, azokkal szemben, melyek szűk fenotípusos plaszticításuk miatt és ilyen mutáció hiányában erre nem képesek. A megváltozott külső környezeti tényező olyan szelekciós nyomást fejt ki az adott növénypopulációra, ami ezeket a megváltozott genetikai állományú (mutált) egyedeket juttatja növekedési, fejlődési, szaporodási előnyhöz. Ennek a több generáción át érvényesülő szelekciós nyomásnak a hatására bekövetkező genetikai változáson alapuló adaptációnak a révén tud alkalmazkodni növénypopuláció a környezeti tényezőknek – egyébként az egyes, nem mutált egyedeinek – a fiziológiai tűréshatárt meghaladó mértékű változásához. A fenotípusos plaszticitás, az akklimatizáció és az adaptáció viszonyát a 10. 3. ábra szemlélteti.

Az adaptáció tehát egy populációban az öröklődés során alakul ki több generáción át. A stresszdús környezetben a mikroevolúciós folyamatok megváltoztatják a génfrekvenciát a populációban, aminek következtében nagyobb túlélési lehetőséget biztosító kedvezőbb génkombináció alakulhat ki. Az adaptáció eredménye az adott környezeti tényezővel szembeni tartós rezisztencia.

A környezeti tényezők hatásához széles tartományban alkalmazkodni, akklimatizálódni képes egyedek az univerzalisták, melyek jó kompetíciós képességgel rendelkezve, rendkívül változatos élőhelyeket képesek benépesíteni, míg a szűk fenotípusos plaszticitású, a környezeti tényezők szűk tartományához alkalmazkodni képes egyedek a specialisták. Ritka az az eset, hogy csak egyetlen stresszor hat a növényre. Általában több stressztényező egyszerre éri a növényeket. Ez az együttes hatás lehet egymást erősítő, szinergista, amikor a stresszorok okozta károsodás nagyobb, mint egyenként kifejtett hatásuk összege.



10.3. ábra A fenotípusos plaszticitás, az akklimatizáció és az adaptáció kapcsolata A) tág fenotípusos növényeknél, B) szűk fenotípusos plaszticitású növényeknél.

Szinergizmus van az alacsony hőmérséklet és a nagy fényintenzitás hatása közt. A fotoszintézisnek a nagy fényintenzitással szembeni érzékenysége alacsony hőmérsékleten lényegesen nagyobb. Ennek oka az, hogy a hideg lassítja a fotoszintézis biokémiai folyamatait és nagy fényintenzitáson ez a fotoszisztémákon gerjesztési

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

energiafelesleget eredményez, azért is, mert számos alternatív energiadisszipációs folyamat (Mehler peroxidáz reakció, fotorespiráció) is gátlódik alacsony hőmérsékleten.

A stresszorok hatása egymással antagonista viszonyban is lehet. Erre jellemző példa az alacsony hőmérséklet és a szárazság. A hideg hatására ozmotikusan aktív, krioprotektáns anyagok koncentrációja megemelkedik a citoplazmában. Ez a folyamat hasonló a szárazságstressz hatására meginduló reakcióhoz. Ennek következtében a hidegtűrés szárazságtűréssel is párosul.

10.1.3. A stresszválasz

Milyen folyamatok zajlanak le a növényekben, amikor stresszhatás éri őket? Az egész növény globális válasza egy környezeti stresszorra a szenzortól, a jelátvivőktől és az anyagcsere megváltozásának jellegétől, mértékétől függ. A környezetből érkező bármilyen hatás elsődleges szenzorai általában a membránok, melyek összetétele és működése különösen érzékeny a hőre, a víz- és tápanyag-ellátottságra, a pH-ra, a redoxviszonyokra és további más celluláris és külső környezeti faktorokra, illetve a membránokban lokalizált fehérjekomponenesek, melyek érzékelőként funkcionálnak. A stresszor hatására adott növényi válasz – jellege szerint – kétféle lehet:

1. **A hatás eltűrése**, amikor a növény gyenge stressz esetén képes a stressz nélküli állapothoz hasonló, magas anyagcsere-aktivitást fenntartani, súlyosabb stressz esetén pedig csökkentett aktivitással működni és biztosítani a túlélést. A tűrés (tolerancia) az egyed alkalmazkodó képességének, az akklimatizációnak az eredménye, amit a fenotípusos plaszticitás mértéke határoz meg.

2. **A hatás kikerülése** azt jelenti, hogy extrém intenzitású vagy tartamú stresszhatás esetén az anyagcsere-aktivitás úgy lecsökken, hogy a növény egy nyugvó, alvó állapotba kerül. A növények többsége helyhezkötött lévén, nem tud mozogni, fizikailag nem tud kitérni, ezért izolálja magát ilymódon a stresszortól. A kikerülés egyik legismertebb példája a mérsékelt égövön a lombhullatás, ami az évszakok evolúciós időtávon át tartó periodikus változása következtében alakult ki. Ilyen az időszakosan kiszáradó területeken élő növények gyors fenológiai fejlődése is, amikor a növény egyedfejlődése a kedvező körülmények rövid ideje alatt lezajlik a csírázástól a maghozásig, majd a körülmények romlásakor, a szárazság feltételei közepette magjai vagy más szárazságtűrő képletei biztosítják a túlélést.

10.2. A szignáltranszdukciós folyamatok vázlatos áttekintése

Szignáltranszdukció néven azokat a folyamatokat foglaljuk össze, melyek a sejt külső környezetéből érkező ingerek felvétele és az általuk kiváltott anyagcsere-változások között mennek végbe. Az első lépés a legtöbb esetben az érzékelés, valamilyen ligandum kapcsolódása egy receptormolekulához, a zárólépés pedig egy fehérje vagy más anyagcsere-termék megjelenése, *de novo* szintézise, vagy átalakulása, melynek eredményeként új funkciók jelennek meg.

A jelátvezetési folyamat a külső környezetből, az extracelluláris térből származó jel felvételével, azonosításával indul. Ez a lépés nagy pontosságot igényel, hiszen a percepciót követő válasz gyakran nagy energiát igénylő, mélyreható változásokat jelent a sejt – szisztemikus válasz esetén az egész növény – anyagcseréjében. A növényi szervezetekben a jel azonosításának funkcióját receptorfehérjék látják el. A jel érzékelését csaknem közvetlenül követi a másodlagos jelek generálása. A másodlagos jelátvivők általában nemproteinek, mint pl. a Ca^{2+}, az inozitolfoszfátok, a reaktív oxigén formák, melyek szintjének változása további jeleket generál. Ez lehet egy proteinfoszforilációs kaszkád inicializálása, amelyhez kapcsolódik a target gének specifikus transzkripciós faktorainak aktiválása és regulációja. Ezeken a jelátvivőkön kívül más típusú tagjai is vannak a szignáltranszdukciós láncnak, olyanok pl. melyek a jelátviteli út komponenseinek modulálásában vesznek részt. A következőkben a szignáltranszdukciós út egyes lehetséges tagjait tekintjük át, a teljesség igénye nélkül.

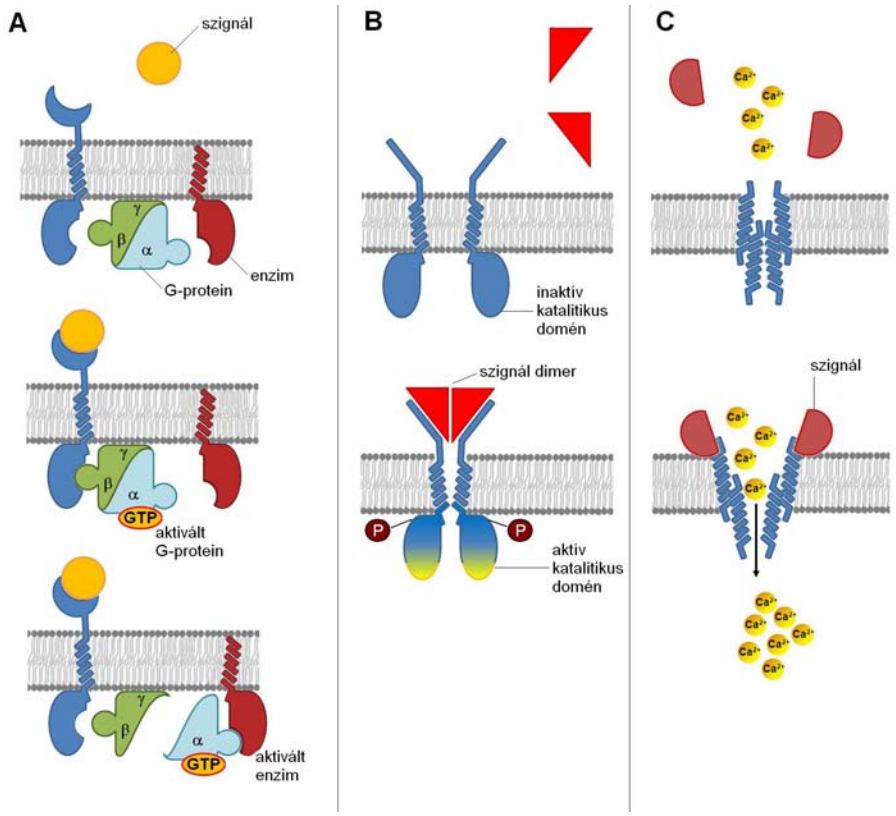
10.2.1. A környezeti jel érzékelése

A stresszorok sejtszintű hatásai alapján azt lehetne képzelni, hogy vannak olyan specifikus szenzorok, amelyek egy bizonyos stresszor jelét érzékelik és továbbítják a sejten belüli célhoz. Ez azt feltételezné, hogy a hidegnek, a szárazságnak vagy éppen a sónak önálló szenzorai vannak. A vizsgálatok azonban mást mutatnak. A növények

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

receptorfunkciót ellátó fehérjéinek egyik típusát a proteinkinázok egy meghatározott csoportja jelenti. A felismerésben szereplő extracelluláris domén a membrán felszínén helyezkedik el, melyhez egy transzmembrán részlet kapcsolódik. A sejt belsejébe nyúló domén pedig a receptor kináz aktivitású részlete. Míg az állatok receptorai nagyrészt tirozin-kinázok, a stresszválaszban résztvevő eddig megismert növényi receptor jellegű fehérjék szerin/treonin-kinázok, kétkomponensű receptorok, ionotróp csatornához kapcsolt receptorok, G-fehérjéhez kapcsolt receptorok, hisztidin-kinázok.

A heterotrimer G-proteinek a szignáltranszdukció membránon belüli első komponensei, melyeknek három alegysége (α 45-47 kD, ß 34-36 kD, γ 7-9 kD) van, és inaktív formában GDP-t kötnek (10.4. ábra A) Amikor a sejtmembrán felszínén a G protein szomszédságában elhelyezkedő receptormolekula aktiválódik, a G protein GTP-áz aktivitású α alegysége GTP-t köt meg, és konformációváltozáson esik át. Ezután az α alegység disszociál az αßγ komplexről, és a kaszkád következő tagjához kapcsolódva aktiválja azt. Ezzel egyidőben a GTP hidrolízise is lezajlik. Végül az α alegység leválik a fehérjéről és ismét kapcsolódik a G protein komplex két másik alegységéhez. A heterotrimer G proteineken kívül az ún. kisméretű G proteinek (SG – small G proteins) heterogén csoportja is részt vesz a szignáltranszdukcióban. A kis G proteinek szerkezete emlékeztet a heterotrimer G proteinek α alegységére, amennyiben mind a GTP-kötő, mind a GTP-áz helyet tartalmazzák, génjeik pedig a megfelelő konszenzus szekvenciákkal rendelkeznek.



10.4. ábra A plazmamembránban lokalizált receptorok három típusa. A) A heterotrimer G-proteinnel működő receptor, B) Enzimaktivitással rendelkező receptor, C) Ioncsatorna receptor.

Az enzimaktivitással rendelkező receptorok (10.4. ábra B) többnyire protein-kinázok. A ligandum kötődése az ábrán mutatott esetben a receptor dimerizálódását váltja ki. ami intermolekuláris foszforiláció útján történő aktiválódáshoz vezet. Az ioncsatornákhoz kapcsolt receptorok (10.4. ábra C) közvetlenül sejtfelszíni csatornákhoz kötődnek, mely csatornák a receptor kötőhelyéhez ligandum kötődése esetén nyílnak. Ilyen típusú receptorok működnek a sejten belüli egyes struktúrák (endoplazmatikus retikulum, vakuólum) membránjaiban lokalizált csatornákhoz kapcsolódva is, melyeknek a Ca^{2+}-ionok citoplazmába áramlásában van fontos szerepe.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

10.2.2. Reaktív oxigén formák (ROS) és szerepük a szignáltranszdukcióban

A ROS-ok – azon kívül, hogy erőteljes és gyors oxidációt képesek okozni – szignálmolekulaként is viselkednek, mely viselkedés megértése, különösen a specifitás, a szelektivitás tekintetében, rövid életidejük és rendkívüli reaktivitásuk miatt nehezen volt elképzelhető. A szignál jelleg azáltal érvényesülhet, hogy az adott ROS megváltozott sejtfunkcióhoz vezető jelátviteli kaszkádot indít el, valamint azáltal is, hogy a ROS, mint egy effektor molekula az elsődleges szignálra adandó válaszként proteinek vagy más struktúrákat változtat meg közvetlenül. A legreaktívabb hidroxil gyök féléletideje 10^{-9} s, tehát csak a keletkezésének közvetlen közelében hathat. A H_2O_2 viszont, melynek féléletideje 1 ms, képződésétől viszonylag nagyobb távolságra is el tud diffundálni. Mivel a ROS-ok egymásba átalakulni képesek, egymással dinamikus egyensúlyban vannak, nem egyszerű megmondani, hogy az adott helyzetben melyik ROS aktív.

Szignálként való működésük feltétele, hogy a sejt érzékelje őket. Ez az érzékelés számos molekula által történhet, akár egyidejűleg is. A H_2O_2 kis molekula, s ezért nem valószínű, hogy van speciális receptora, ami a klasszikus receptor/ligandum kötéshez hasonlóan felismerné. De mivel gyenge oxidáns, az „üzenetet” oxidáló képessége révén továbbíthatja. Lehetséges, hogy a ROS-oknak a sejt egyes helyein való előfordulása determinálja szignál mivoltukat, annak hatékonyságát és specifitását. A ROS-ok, de leginkább a H_2O_2, jelenlétét érzékelő protein valószínűleg egy kétkomponensű hisztidinkináz (HK) a plazmalemmában. HK-ok a növényi sejtben ozmoszenzorként és a hormonok érzékelésében is szerepet játszanak. A ROS-ok érzékelésére szolgálhatnak továbbá olyan molekulák, melyek ugyan nem egy szignáltranszdukciós út csúcsán állnak , hanem a láncban vesznek részt, mint például tiolperoxidázok, proteinkinázok vagy foszfatázok. Ugyanígy transzkripciós faktorok is lehetnek a redox signalling részei. A ROS-ok bárhol is képződnek és hatnak, célpontjaik nagy valószínűséggel a fehérjék cisztein és metionin komponenseinek –SH csoportjai. E csoportok oxidációja, -S-S- csoportok kialakulása az adott protein konformációs változását, s ezáltal aktivitásának megváltozását eredményezi. Ezen kívül számos más változás is bekövetkezhet a fehérjékben a ROS-ok hatására.

A ROS-ok érzékelését a jelátviteli lánc egyes komponenseinek a ROS detoxifikációban résztvevő elemekkel való kölcsönhatása is eredményezheti. Így pl. a tioredoxin (TRX) rendszer a kloroplasztiszban és a citoszolban rendelkezik ilyen funkcióval.

10.2.3. A kalciumion, mint másodlagos hírvivő

A citoplazmában viszonylag alacsony koncentrációban jelenlévő kalciumion több szignáltranszdukciós lánc komponense. Többek között résztvesz a só- és ozmotikus stresszekben, a szárazság, az erős fény a hőmérséklet szélsőséges értékei, a patogén elicitorok által kiváltott stresszekben, a hősokk és az anoxia körülményei közt. A specifitást több tényező befolyásolja, így a Ca^{2+} mintázat milyensége (a koncentrációváltozás amplitúdója, időtartama, frekvenciája), a Ca^{2+} forrása, a szenzorok szubsztrát-specifitása, érzékenysége, elhelyezkedése, a sejt típusa, stb. Az egyes stresszorok hatására bekövetkező citoplazmatikus Ca^{2+} -jel milyenségét és forrását az 10. 1. táblázat mutatja.

10.1. táblázat Az egyes stresszorok hatására bekövetkező citoplazmatikus Ca^{2+}-jel jellege és forrása.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Inger	Citoplazmatikus Ca^{2+} jel	Ca^{2+} raktár
Hidegsokk	gyors, átmeneti kalciumcsúcsok (másodpercek)	főként kívülről
Lassú hűtés	kétfázisú kalciumszint-emelkedés (percek)	kívülről és belülről (vakuólum, IP3-függő)
Hiperozmotikus és sóstressz	egy- vagy kétfázisú kalciumszint-emelkedés (20-60 mp)	kívülről és belülről (vakuólum, IP3-függő)
Hipoozmotikus stressz	gyors, kétfázisú kalciumszint-emelkedés (percek)	kívülről és belülről (ER)
Mechanikai stressz	gyors, átmeneti csúcsok (másodpercek) • érintésnél egyfázisú az érintés helyén • hajlításnál a nyújtott oldalon kétfázisú	belülről
Oxidatív stressz	néhány perces csúcsok	kívülről és belülről
Anoxia	gyors és órákig tartó kalciumszint-emelkedés	belülről (mitokondrium)
Hősokk	15-30 percig tartó kalciumszint-emelkedés	kívülről és belülről

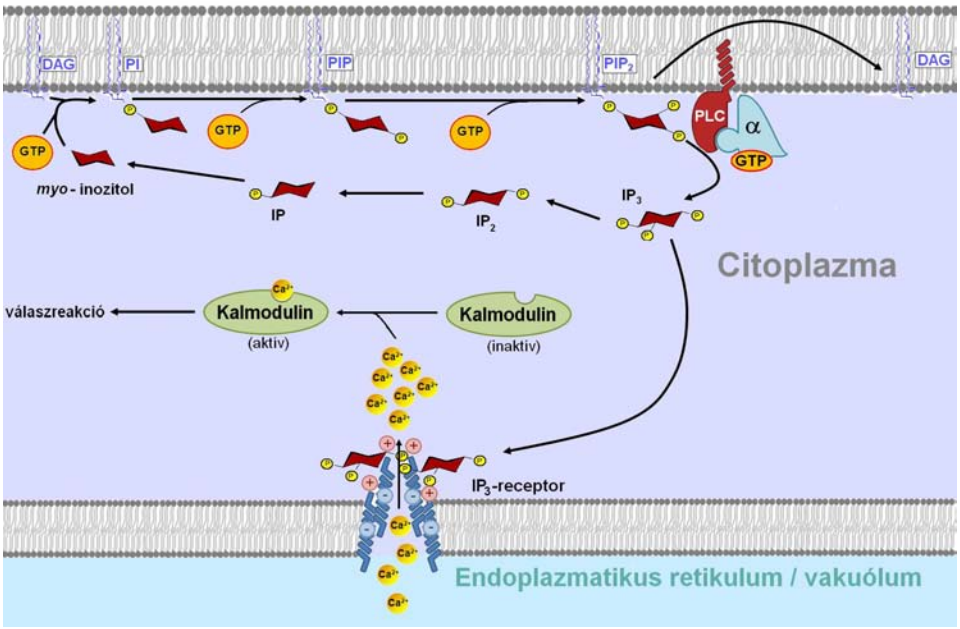
A citoszolba kerülő Ca^{2+} az apoplasztból és egyes sejtorganellumokból származik (lásd még 2.3.5.2.). A Ca^{2+}-szint emelkedésében a plazmalemmán és az organellumok membránjában lokalizált csatornák működnek közre. A Ca^{2+} akkumuláció kinetikája és mértéke a stresszor milyenségétől függ. A szenzorfehérjék kétfélék lehetnek, attól függően, hogy rendelkeznek-e enzimfunkcióval – ezek a sensor responderek -, vagy nincs enzimfunkciójuk, ezek a sensor relay-k. Az előbbiek foszforiláció révén hatnak a célfehérjére, míg az utóbbiak másfajta kölcsönhatást fejtenek ki.

Az enzimfunkcióval nem rendelkező – az eukarióták körében általánosan elterjedt – kalmodulin 148 aminosavból épül fel, ami a C- és N- terminálisa közelében 2-2 kalciumiont köt meg. A kalciummal aktivált kalmodulin kalciumfüggő proteinkinázokhoz kapcsolódik. Ezek a fehérjék azután – a szerin, illetve treonin hidroxilcsoportjainak foszforilálása révén – további enzimek működését indítják be, vagy transzkripciós faktorok foszforilálásával gének expresszióját segítik elő.

10.2.4.További jelátvivők

Inozitol-foszfatidok**.** A kalciumionok citoplazmába áramlását idézik elő a másodlagos hírvivők egy csoportját alkotó inozitol-foszfatidok (IP) is. A plazmamembrán lipidjeihez kapcsolódó foszfatidilinozitol 4,5-biszfoszfátot (PIP2) a foszfoinozitid-specifikus foszfolipáz C (PI–PLC) hasítja le, s a keletkező diacilglicerol (DAG) a proteinkináz-C-t, az inozitol-trifoszfát (IP_3) pedig a Ca^{2+}-t kiválasztó kompartmentet, illetve a Ca^{2+}-csatornákat aktiválja. A teljes folyamatot itt is a membrán külső felszínén elhelyezkedő receptorhoz kötődő ligandum indítja el. A növényekben stresszhatásra növekszik a PI-PLC aktivitás (*Arabidopsis thaliana* AtPLC1S, AtPLC1F, szója PLC1), és ez a citoplazmatikus Ca^{2+}-szint növekedését vonja maga után.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



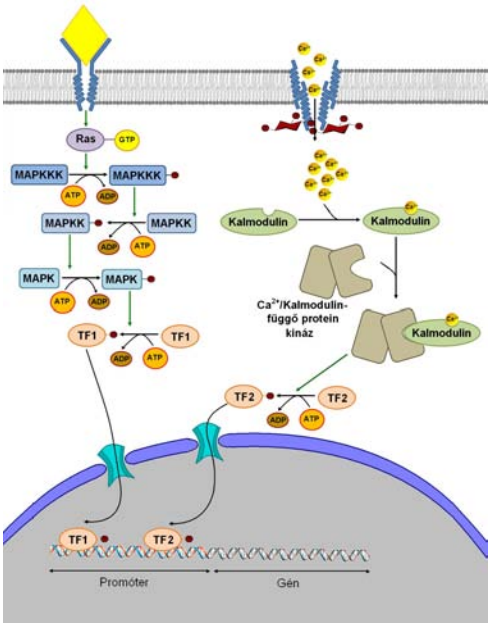
10.5. ábra A foszfolipáz C (PLC) aktiválásától a citoplazmatikus Ca^{2+} szint emelkedéséig vezető jelátviteli folyamatok. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

A nitrogénmonoxidról ismert, hogy számos növekedési és fejlődési folyamat szabályozásában játszik szerepet, így a csírázástól a pollentermelésig, illetve biotikus és abiotikus stresszorok elleni toleranciában. A NO kulcsszignál a patogén-növény kölcsönhatásban amikor a hiperszenzitív reakciót triggereli és elősegíti a szisztemikus szerzett rezisztenciához (SAR) vezető utakat. Egyre több bizonyíték van arra vonatkozóan, hogy a NO a proteinek funkcióját poszttranszlációs módosításuk révén szabályozzák, elsősorban a tirozin nitrálása és S-nitrozilálás útján. Hatását valószínűleg a citoszkeleton proteinjeire fejti ki, mivel ezek a proteinek vesznek részt számos, a NO által regulált folyamatban. A citoszkeletonról viszont ismert, hogy számos környezeti hatásra válaszol, többek között, mint pl. a fény, a gravitáció, a hideg, a hőség, a növényi hormonok, a Ca^{2+}, vagy a H_2O_2. Ismert továbbá az is, hogy olyan folyamatokat is „szervez”, mint a sejtosztódás, a növekedés, fejlődés, vezikulumtranszport, stb.

Ca^{2+}-dependens proteinkinázok (CDPK) a növényi proteinkinázok lagnagyobb csoportját alkotják., melyek Ca^{2+}-szenzorok és kinázok is egyben. A CDPK-k az abiotikus stresszek jelátviteli folyamataiban fontos szerepet játszanak.

A mitogén-aktiválta protein kináz (MAPK) kaszkádA 10.6. ábra a MAP kináz kaszkád működését is mutatja (az ábrán balra). A receptortól kisméretű G-proteinek továbbítják a jelet a MAPK kaszkád első tagjához. A MAP kináz kaszkád utolsó tagja a transzkripciós faktort aktiválja. A másik szignáltranszdukciós lánc az inozitoltrifoszfát (IP_3) által nyitott Ca^{2+}-csatornán átáramló Ca^{2+}- ionok kalmodulinhoz kötődése által működtetett utat mutatja.

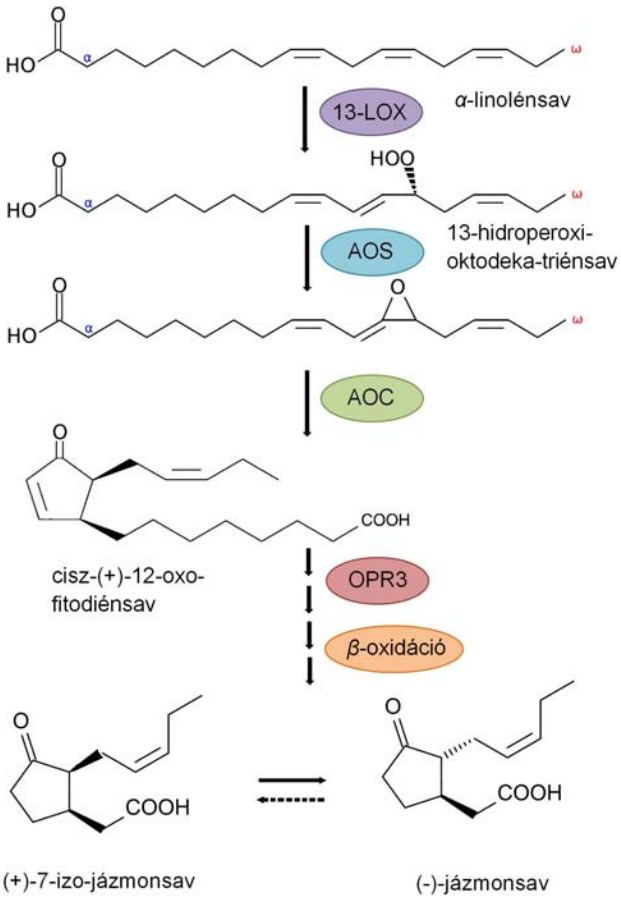
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



10.6. ábra A MAPK kaszkád (balra), illetve a kalmodulin részvételével zajló szignáltranszdukciós lánc (jobbra). Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

A jazmonsav (JA). A jelátvezetés egyik jellegzetes növényi útját példázza a növények mechanikus hatásokra (sebzés, rágás) adott válaszreakciója. A mechanikus hatások forrása leggyakrabban rovarkártevő, így az erre az ingerre adott egyik növényi válasz (proteinázgátló termelés) elsősorban levélrágó rovarokra fejt ki hatást. A rovar emésztőtraktusába jutó proteináz inhibitor a kimotripszinre (proteinázgátló I), illetve a tripszinre és a kimotripszinre is (proteinázgátló II) hat, meggátolva a fehérjék emésztését. A levélrágás elsődleges hatásaként a megtámadott növény sejtjeinek sérült falában pektinázok szabadulnak fel, és oligoszacharidokat termelnek, melyek a plazmalemma receptoraira kerülve protein-kinázokat aktiválnak. Ezek az ugyancsak a plazmalemmában lokalizált lipázokat foszforilálás révén aktiválják. Ettől kezdve a levél mechanikus sérülésének, mint ingernek a hatása a külső környezetből áttevődött a sejt belsejébe. A JA és származékainak bioszintézise a linolénsavból indul (10.7. ábra). A linolénsav a növényi membránban észterszármazékok formájában fordul elő. A lipázok hatására az észterkötés felbomlik, a felszabaduló linolénsavból megkezdődik a JA szintézise.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



10.7. ábra A jazmonsav bioszintézise növényekben. Jelmagyarázat: LOX: lipoxigenáz, AOS: allénoxidszintáz, AOC allénoxid cikláz, OPR3: oxofitodiénsav reduktáz

A JA egyik származéka a metiljazmonsav (MeJA), mechanikus sérülést követően szabadul fel a növényekben. A MeJA illékony vegyület lévén, a megtámadott növénnyel szomszédos egyedekbe is átkerül, ahol JA-vá alakul, és ezzel mintegy átviszi a "hírt", kiváltja a proteinázgátlók termelését a közeli szomszédokban. Ez a gáztér közvetítésével zajló kommunikáció szomszédos növényegyedek között bizonyára nem az egyetlen létező ilyen típusú mechanizmus. A JA a proteináz inhibitor gének promoterének megfelelő részleteihez nem közvetlenül kapcsolódik. A JA által közvetített jel JA-receptorokon és transzkripciós faktorokon keresztül jut el a megfelelő gének promotereihez.

A következőkben – a teljesség igénye nélkül – néhány stresszor hatására a növényekben bekövetkező folyamatot tekintünk át, így a hőmérsékleti, a nehézfém-, a fény-, és az oxidatív stresszeket.

10.3. A hőmérsékleti stresszek és kivédésük

A hőmérsékletnek az egyes életfolyamatok intenzitására gyakorolt hatása jól ismert. Az optimális alkalmazkodás tartományán túli hőmérséklet, azaz a hőség, illetve a nagy hideg jelentősen befolyásolják az anyagcserét, a növekedést, a növény életképességét.

10.3.1. Alacsony hőmérsékleti stresszek

A hidegstressz. A növények poikilotermek, azaz hőmérsékletük környezetükével azonos. Az alacsony hőmérséklet mégis kritikus a növények szempontjából, hiszen a természetes növénytársulások előfordulásának, elterjedtségének egyik legfontosabb meghatározója. A mezőgazdaságilag termesztett növények esetében pedig a hőmérséklet az a tényező, ami egy adott területen való termeszthetőségüket limitálja.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A hidegstressz a fehérjék működését is befolyásolja, s ez jelentheti egyes enzimek serkentését, vagy éppen gátlását is, annak ellenére, hogy az enzimek általában inkább a magas hőmérsékletre érzékenyebbek. A hideg hatására bekövetkező egyes változások a növény számára előnytelenek, károsító hatásúak, mint pl. a széndioxid-fixációval kapcsolatos reakciók vagy az antioxidáns enzimek gátlása, mások viszont a védelmet szolgálják, így a krioprotektáns anyagok felhalmozódása, vagy a membránlipidek deszaturálását végző enzimek serkentése. Az enzimek általában a magas hőmérsékletre inkább érzékenyek, mint az alacsonyra, bár vannak kivételek, mint pl. a K^+-ATP-áz, melynek aktivitáscsökkenése a hidegstresszelt növényekben K^+ effluxot eredményez.

Fagystressz.A fagy elsődleges célpontjai a membránok. A fagy hatása nyomán a membránok szemipermeabilitása megszűnik, elvesztik aktív iontranszportáló képességüket, foszfolipidjeik degradálódnak, fázisátmenet történik, és a membránfehérjék eloszlása is megváltozik laterális mozgásuk következtében. A legnagyobb veszélyt a sejten belüli jégképződés, a jégkristályok kialakulása jelenti.

A kontinentális klímazóna tartósan hideg területein élő növények a fagypont alatti hőmérsékletet vagy kikerüléssel, vagy a fagy eltűrésével vészelik át. Az egyik lehetséges kikerülési mechanizmus a túlhűlés, amikor oldott anyagok akkumulálódnak a sejtben és a ezáltal a citoplazma fagyáspontja lecsökkentik. Ez két úton következhet be. Az egyik út cukrok, polialkoholok és más ozmotikusan aktív anyagok szintézise révén, a másik a víznek az érzékenyebb szövettájból a kevésbé érzékenybe történő mozgatásával vezet a védendő sejtek citoplazmájában az oldott anyagok koncentrálódásához, ami csökkenti a fagyáspontot. A víz elszállítása ily módon azonban úgy hat a protoplazmára, mint a kiszáradás. Az erősen bekoncentrálódott ozmotikumok (ionok, szerves savak) az enzimeket is inaktiválhatják.

Ha a hőmérséklet fagypont alá esik, megindul az extracelluláris jégképződés. Az intracelluláris folyadéknak általában alacsonyabb a fagyáspontja. A jégkristályok az extracelluláris kristályosodási gócpontokban kezdenek nőni. A kristályosodási gócpontok képzése fontos szerepet játszik abban, hogy a fagytűrő növények túléljék a hosszabb időn át tartó alacsony hőmérsékletet, azáltal, hogy nem hagyják nagyon túlhűlni a növény nedveit, így a fagyás viszonylag lassú és szabályozott folyamat lehet. Az intracelluláris jégképződés mindenképpen letális, mert a plazmamembrán irreverzibilisen sérül, összetöredezik, destabilizálódik, elveszíti szemipermeabilitását

A fagytűrő növényeknek a fagytolerancia kialakulásához szükséges egy hideg akklimatizációs időszak. Ezen idő alatt a növény olyan fehérjéket halmoz fel, melyek szintézise az alacsony hőmérséklet hatására nő. (Vannak köztük extracellulárisak és intracellulárisak is.) Ezek lehetnek: dehidrinek, antifreeze glikoproteinek, 14-3-3 fehérjék, kináz regulátorok, krioprotektív fehérjék.

Az akklimatizáció ideje alatt 3 féle fehérje halmozódik fel a sejten kívül: a sejtfalat megváltoztató fehérjék, pathogenesis-related (PR) proteinek, (A PR fehérjék patogén fertőzés hatására kerülnek az apoplasztba és pl. a fertőző gomba sejtfalának degradálását végzik, illetve a gombák egyes enzimeit gátolják.), valamint az antifreeze proteinek (AFP),

Az AFP-k megakadályozzák a jégkristályok növekedését és csökkentik a fagyáspontot, gátolják az átkristályosodást, kötődnek a kristályosodási gócokhoz, csökkentve azok aktivitását. Az AFP molekulái adszorbeálódnak a jégkristály felületén, így fejtik ki annak növekedését szabályozó/gátló hatásukat. Több hidrofil jégkötő doménjük van, amelyek a jég újrakritályosodását és a kristályosodási gócok kialakulását gátolják. Az AFP-k fagyásgátló aktivitása a jégkristályok morfológiája alapján jellemezhető. A jégkristály formája függ az AFP koncentrációtól és specifikus aktivitásától. Alacsony AFP koncentrációnál (nM) hexagonális kristályforma keletkezik. Magas AFP koncentrációnál (mM) szintén hexagonális kristályok keletkeznek, de a kristály megnyúlik és oszlopokat vagy bipiramis formát képez. *Még magasabb* AFP koncentrációnál (100 mM) a kristályok tű alakúak. A növényekben konstitutívan nincs antifreeze aktivitás, az csak a hidegakklimáció során jelenik meg. Nem csak az alacsony hőmérséklet, hanem a tél felé közeledve a nappalok rövidülése is fontos tényező képződésük kiváltásában.

10.3.2. Magas hőmérsékleti stressz

A magas hőmérséklet a membránok állapotát és a proteinek konformációját befolyásolja. Különösen hőérzékenyek a kloroplasztiszok tilakoidmembránjai, ezért a hőstressz egyik első jele a fotoszintetikus funkciók zavara. Először a PS II gátlódik, ezt követi a széndioxid-fixáció gátlása.

A magas hőmérséklettel szembeni egyik leghatásosabb védelmet a specifikus, ún. hősokkproteinek (HSP) nyújtják. Ha egy szervezet – nemcsak növény – a számára megszokott optimális hőmérsékletről mintegy 10 fokkal magasabb

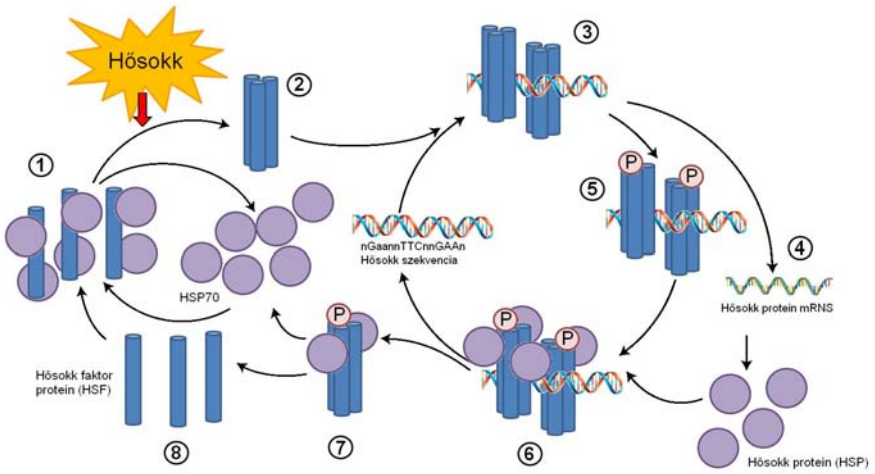
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

hőmérsékletre kerül, akkor génexpressziója jelentős mértékben megváltozik. A legtöbb szokásos protein szintézise represszálódik és a hősokkproteinek transzkripciója és transzlációja indul be

A hősokkproteinek nagyon elterjedtek az élővilágban, előfordulnak magas hőmérsékleti indukció nélkül, konstitutívan, nemstresszelt sejtekben is, termelődhetnek a sejtciklus egyes fázisaiban, félautonóm organellumokban, így a kloroplasztiszokban és a mitokondriumokban is. Jelentőségük messze túlmutat a magas hőmérséklet elleni védelemben betöltött szerepükön. A HSP-k multigén szupercsaládok tagjai, melyeknek azonban nem mindegyike hőregulált, azaz vannak olyan HSP homológ proteinek is a sejtekben, melyek nem a magas hőmérséklet hatására expresszálódnak. Ismeretes, hogy pl. egyes nehézfémek, aminosav-analógok, glukózhiány, kalcium ionoforok és más kezelések is kiváltják egyes HSP-k szintézisét. A növények hőtűrésének egyik kritikus pontja a fotoszintézis folyamatosságának fenntartása, mivel – mint fentebb említettük – a fotoszintézis egyes folyamatai a hőstresszre különösen érzékenyek. Számos HSP-ről valóban bebizonyosodott, hogy transzlokálódnak a kloroplasztiszba és hozzájárulnak a fotoszintetikus apparátus nagyobb hőtűrő képeségének kialakításához. Elsősorban a HSP21 és a HSP24 védi a PS II aktivitását a hőstressztől, valószínűleg a tilakoidmembránokhoz kötött proteinek védelme révén.

A hősokkproteinek csoportosítása kDa-ban kifejezett molekulatömegük alapján történik. Ennek megfelelően ismeretesek a HSP110, HSP90, HSP70, HSP60 elnevezésű, illetve alacsony moltömegű (15–30 kDa) sHSP-k csoportja is. Az eukarióta sejtek kompartmentjeiben való előfordulásuk és aminosav-szekvenciájuk alapján a HSP-családok izoformáit három alcsaládba lehet sorolni: a) a citoplazmatikus HSP-k, b) az endoplazmatikus retikulumban és a Golgi-apparátusban előforduló HSP-k, c) a kloroplasztiszok és a mitokondriumok HSP-jei.

Mi a HSP-k szerepe a magas hőmérséklet elleni védelemben? A hősokkproteineknek fokozatos expressziója a hősokk elemek (HSE) által szabályozott (10.8. ábra). A HSE-k a DNS lánc promóter régiójában lokalizáltak, azaz ennek alapján a hősokk elemek az inicációért felelősek.



10.8. ábra A hősokkproteinek transzkripciójának lehetséges molekuláris mechanizmusa. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

A HSE-k egy olyan nukleotidszekvenciát hordoznak, ami bármely szervezetből származó HSE-ben azonos. Ezekhez a hősokk elemekhez egy transzkripciós faktor, a hősokkfaktor (HSF) kapcsolódik, és ennek hatására indul meg a hősokkprotein gének expresszálódása. A hősokkfaktorokról kimutatták, hogy a különböző szervezetekben meglehetősen különböznek egymástól, de néhány DNS-kötő doménjuk megegyezik. Nem stresszelt állapotban a hősokkproteinek (HSP70) a hősokkfaktorokhoz kapcsolódnak, ekkor a HSF-ok monomer formában vannak jelen. Magas hőmérséklet hatására a HSP-k ledisszociálnak a HSF-ról, és a HSF-ok trimereké kapcsolódnak össze. Ezek a trimerek hozzákötődnek a hősokkelemekhez, ekkor megindul a HSP-gének transzkripciója. A HSF trimer foszforilálódik, ami megkönnyíti a bekötését a HSP70 fehérjének a trimerhez. Ezután a HSF trimer-HSP70 komplex ledisszociál a hősokkelemről, defoszforilálódik, majd a hősokkfaktor trimer monomerjeire esik szét. A HSP-knek a hősokk általi fokozott termelése megnöveli a HSF-t gátló HSP-molekulák populációját, ami a HSP gének "leszabályozásához" vezet. A HSP, a HSF és a HSE kölcsönhatása szabályozza a HSP gének transzkripciójának rövidtávú indukcióját.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

10.3.3. A hőmérséklet érzékelése

Van-e olyan mechanizmus, amely, mind a hideg, mind a meleg hőmérsékletet érzékeli? A hőmérséklet-függő reakciók általánosak a biokémiában, így tehát bármely reakció, amely a hőmérsékleti változásokat funkcionális állapotváltozással képes jelezni, a hőmérséklet jelzésére alkalmas lehet. A hőmérséklet szenzorának azonban olyannak kell lenni, ami a szignáltranszdukciós kaszkád előtt (upstream) található. Az első, ami ennek a feltételnek megfelel: a sejtmembrán, melynek a hőmérséklet hatására bekövetkező fluiditásváltozása képes lehet egy szignáltranszdukciós utat stimulálni. Katalitikus hidrogénezést alkalmazva kimutatták, hogy a plazmamembrán lipidjeinek telítése, telítetlenségi szintjének csökkenése egy, a deszaturáciért felelős gén, a desA gén indukciójához vezetett, ami általában a hőmérsékletcsökkenés hatására szokott bekövetkezni. Arra következtettek, hogy a plazmamembrán acil láncainak kettős kötéseinek hidrogénezése által okozott fluiditáscsökkenés triggerelte a desA gén válaszát. Ugyancsak a membránok rigidebbé válását okozza a dimetilszulfoxid (DMSO) kezelés is. A membránt fluidabbá tévő anyag pl. a benzilalkohol (BA) viszont éppen a hidegakklimatizáció lehetőségét gátolta. A proteinkonformáció is változik a hőmérséklettel. Mind a hőmérséklet csökkenése, mind emelkedése a fehérjék széthajtogatódásához, denaturációjához vezet. A magas hőmérsékleten bekövetkező protein denaturáció szerepet játszik a hőstressz faktorok aktiválásában. Kimutatták, hogy a fehérjéknek a hideg hatására bekövetkező konformációs változásai is részt vesznek a hideg érzékelésében. Megállapították azt is, hogy a hőmérséklet csökkenése mind a mikrofilamentumok, mind a mikrotubulusok depolimerizációját váltja ki. A hő is hasonlóképpen hat a citoszkeleton ilyen alkotóelemeire. Számos jel mutat arra is, hogy az említett lehetséges mechanizmusokon kívül az enzimek működésének hőmérsékletfüggése, amit a 10°C hőmérsékletemelkedés hatására bekövetkező enzimaktivitás-változás mértékével (Q_{10}) lehet jellemezni, szintén szerepet játszik a hőmérséklet érzékelésében.

Az említett mechanizmusok vizsgálata azt valószínűsíti, hogy a növényeknek nem egyetlen, hanem valószínűleg több, különböző lehetősége is van a hőmérséklet érzékelésére, nincs egy sejthőmérő, nincs egy protein, vagy egy organellum, amelyik egymagában lenne felelős a hőmérséklet érzékeléséért. A hőmérsékletnek az anyagcserefolyamatokra gyakorolt hatásának van egy termodinamikai alapja, valamint az is szerepet játszik, hogy a proteinek konformációja, s ezáltal aktivitásuk is megváltozik. A membrán/citoszkeleton kontinuum miatt a membrán fizikai állapota és a citoszkeleton destabilizálódása is kölcsönösen összefügg egymással. A hőmérsékletet érzékelő egyes mechanizmusoknak az érzékelési küszöbe eltérő, s a növényi sejt hőmérsékletérzékelő elemei egy időbeli és térbeli integrált hálózatot alkotnak.

10.4. A látható fény okozta stressz

A természetes ökoszisztémákban a növények a legkülönbözőbb fényviszonyok között élnek és megfelelő morfológiai, anatómiai, fiziológiai változásokkal alkalmazkodtak a termőhelyi fényviszonyokhoz. Ezeknek a változásoknak alapján már régóta megkülönböztetik az intenzív megvilágítású termőhelyekhez alkalmazkodott fénynövényeket és az alacsony megvilágítást kedvelő árnyéknövényeket.

A fotoszintézis fiziológiája is jellegzetes különbségeket mutat a fényhez, illetve az árnyékhoz alkalmazkodott növényekben. A fotoszintézis magas vagy alacsony fényhez való adaptáltságát az ún. fénygörbe felvételével lehet megállapítani. Ennek lényege az, hogy meghatározzák a fotoszintézis mértékét a növényt érő fény intenzitásának függvényében. Az alacsonyabb megvilágítás-intenzitásokon a fotoszintetikus oxigéntermelés mind a fény-, mind az árnyéknövények esetében a fény intenzitásával arányosan nőtt. Árnyékadaptált növények leveleinek nettó fotoszintetikus aktivitása alacsonyabb megvilágítás-intenzitásnál és egy alacsonyabb értéket elérve telítődik, valamint a fénygátlást tükröző aktivitáscsökkenés is a nagy fényintenzitáshoz adaptálódott növényhez képest alacsonyabb fényintenzitásnál következik be. A fényadaptált növény leveleinek fotoszintetikus aktivitása magasabb fényen és egy magasabb nettó fotoszintézist elérve telítődik. Erős fényhez adaptált fotoszintetikus apparátusban az elektrontranszport lánc komponenseiből van viszonylag nagyobb készlet, hogy az abszorbeált fényenergia minél nagyobb hányadát legyen képes fiziológiás úton elvezetni, a fotoszintézisben hasznosítani. Gyenge fényhez adaptált rendszerben pedig a fény minél hatékonyabb abszorpcióját lehetővé tevő fénygyűjtő komplexek (LHC I, LHC II) relatív aránya a nagyobb az elektrontranszport lánc komponensekhez képest. A növényeket akkor éri a fényviszonyokból adódóan stresszhatás, ha aktuális adaptáltsági állapotukhoz képest túl sok, vagy túl kevés fény éri őket. Magas fotonáram-sűrűség esetén, azon kívül, hogy a levél felmelegszik, a fénygyűjtő apparátus több fényt abszorbeál, mint aminek energiáját a fotoszintetikus elektrontranszport lánc hasznosítani tudná, és ez kiegyensúlyozatlansághoz vezet, és károsíthatja is a növényt. Túl alacsony fényintenzitás esetén viszont erősen lecsökken a fénybegyűjtés lehetősége és ezáltal a széndioxid fixációjához szükséges faktorok termelődése is, ami számos szintetikus folyamat gátlását eredményezi.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

10.4.1. A fotoinhibíció

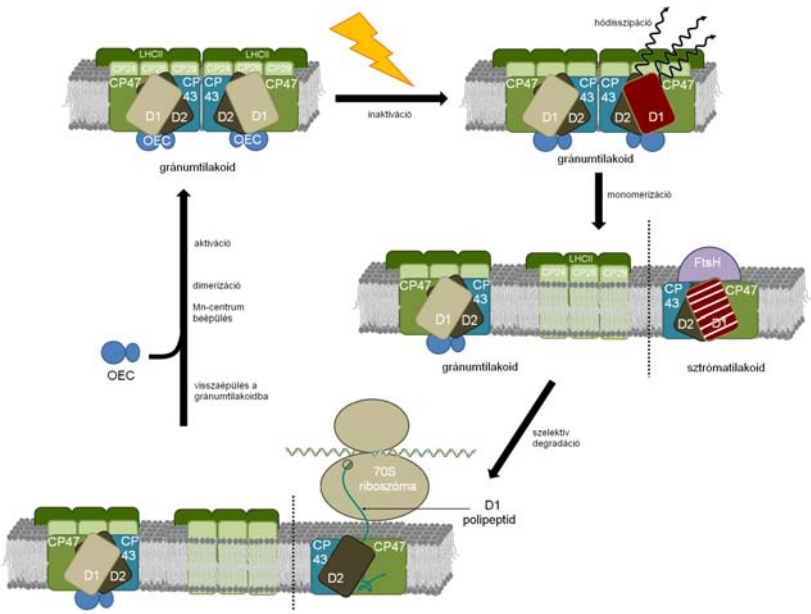
A fotoszintetikus apparátus nagy fényintenzitás által okozott stressze a fénygátlás, a fotoinhibíció. A fotoszintézis fénygörbéjéről fentebb szólva említettük, hogy a fotoszintetikus aktivitás, pl. az oxigéntermeléssel jellemezve az alacsonyabb fényintenzitás régiójában arányos a fényintenzitással. A megvilágítás intenzitásának további növekedésével azonban az oxigéntermelés egyre lassabban nő, majd bekövetkezik egy olyan pont, amely után a fotoszintetikus működés csökkenni kezd, különösen akkor, ha egyéb környezeti tényezők is kedvezőtlenek. Ezt a tünetet a fénygátlás (fotoinhibíció) néven összefoglalt bonyolult folyamatok okozzák.

A fotoinhibíció minden oxigéntermelő fotoszintetizáló szervezetben előforduló jelenség, ami elsősorban a PS II-t károsítja. A fény a fotoszintézisnek olyan szubsztrátja, amelynek mennyisége a természetben nagymértékben változhat. Annak elnyelését a növény csak korlátozott mértékben képes szabályozni, és feleslege esetén a növényt érő energiatöbblet destruktív folyamatokat válthat ki. Nagy fényintenzitáson a primer fotokémiai folyamatok a PS II-ben akkor is végbemennek, amikor a hozzá csatlakozó reakciók működése, sebessége limitált. A PS II károsodásához az is hozzájárul, hogy működése során O_2 fejlődik, ami a nagy fénytöbblet körülményei közepette, gerjesztett klorofill molekulákkal kölcsönhatásba lépve szinglet oxigént eredményez. Az elektrontranszport lánc látható fény általi inaktiválása a PS II akceptor, illetve donor oldalán is bekövetkezhet, és ennek megfelelően akceptor, illetve donor oldali fotoinhibícióról beszélünk.

Az akceptor oldali hatáson alapuló fotoinhibíció esetén a PS II erős megvilágítása a kinon akceptorok (Q_A, Q_B és a plasztokinon-pool) működését befolyásoló változásokat okoz. A plasztokinon redox egyensúlya teljesen eltolódik a PQH_2 képződésének irányába, így a D1 proteinen lokalizált Q_B kötőhely alig köt plasztokinont. Ezáltal a kötött Q_A nemcsak egy elektront vesz fel, hanem kettőt, majd két proton felvételével Q_AH_2 képződik, ami leválik a D2 proteinen lokalizált kötőhelyről. Így nem tud végbemenni a primer fotokémiai reakcióval együtt járó elektronátadási folyamat, és $P680^+/Feo^-$ gyökpár keletkezik. Ezek rekombinációjakor $^3P680$ képződik, ami aerob körülmények között molekuláris oxigénnel reagálva szinglet oxigént eredményez. A szinglet oxigén elsősorban a P680-t, valamint a keletkezési helyéhez közeli pigmenteket és aminosavakat, pl. a D1 proteinen a klorofillt kötő hisztidineket érinti. Anaerob körülmények között a nagy fényintenzitáson a PS II szintén inaktiválódik, irreverzíbilis károsodás azonban nem következik be, a D1 protein nem degradálódik, és a kinon akceptorok oxidációjával a PS II aktivitás helyreáll. A szinglet oxigén okozta károsodás a reakciócentrum konformációját valószínűleg úgy változtatja meg, hogy a D1 protein proteázoknak való kitettsége megnő. Kimutatták, hogy a fotoinhibíció során más aktív oxigén formák (szuperoxid anion gyökök és hidroxilgyökök) is képződnek. Az aktív oxigén formáknak a fotoinhibícióban betöltött szerepét igazolja az a megfigyelés is, hogy az akceptor oldali fénygátlás a molekuláris oxigén kizárása esetén részben reverzíbilis.

A donor oldali fénygátlás a vízbontó komplex működésének károsodása nyomán lép fel. Ilyenkor az erős oxidáló hatású $TyrZ^+$ és $P680^+$ akkumulálódik. Ez is a reakciócentrum protein irreverzíbilis oxidatív károsodásához vezet. A donor oldali fotoinhibíció esetében a károsodás anaerob viszonyok közt is bekövetkezik. A D1 protein degradációja valószínűleg proteolitikus jellegű, de a D1 proteinnek aktív oxigén formák általi kémiai destrukciójának lehetősége is fennállhat. Megállapították azt is, hogy a D1 protein károsodása és ennek következtében a fotoszintetikus kapacitás csökkenése bármilyen fényintenzitáson is bekövetkezhet, de ennek megnyilvánulását a kijavító folyamatok elfedik. Nagy fényfelesleg esetén a fotoinhibíció érzékelhető lesz, mert a D1 protein degradációja felülmúlja a kijavító mechanizmusok kapacitását. A D1 és a D2 proteinek akár akceptor, akár donor oldali fénygátlás során bekövetkező hasítása nem valószínű, hogy közvetlen fotokémiai hasítás lenne. Valószínűbb, hogy a fotokémiai folyamatok csak a két protein konformációs változásait segítik elő, ami a proteolitikus reakciók bekövetkeztét elősegítik. E folyamatok összefoglalását mutatja a 10. 9. ábra.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



10.9. ábra A fénygátlás kialakulásának, valamint az azt követő helyreállásnak folyamatai. CP: klorofill-protein. Részletes magyarázat a szövegben. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

A növények a fény károsító hatására úgy reagálnak, hogy visszaállítják a normális fotoszintetikus funkcióikat. Ez történhet úgy, hogy vagy az inaktivált PS II-t lebontják és összes alegységét újraszintetizálják, vagy csak a sérült komponenseket bontják le és a többit felhasználják az aktív komplex kialakításához. Újabb adatok szerint a D1 protein degradálódása után annak prekurzora szintetizálódik *de novo* és épül be a funkcióképes PS II komplexbe. A D1 protein degradációja másodlagos folyamatokat is kivált. Megfigyelhető a Mn atomok és az extrinsic proteinek (a reguláló sapka) leválása. Kimutatható továbbá a különböző PS II alegységek laterális migrációja a tilakoidmembránok kapcsolt régióiból a kevésbé kapcsolt régiók felé, ami a helyreállító mechanizmusok működéséhez szükséges. A kevésbé kapcsolt régiókban történik az új D1 protein szintézise, ami innen kerül vissza a szorosan kapcsolt régiókba, ahol a megfelelő kofaktorok beépülése és aktivációja után újra aktív komplexek alakulnak ki. A migráció során a D1 protein palmitoileződik, ami a PS II kapcsolt régiókba való migrációjához szükséges.

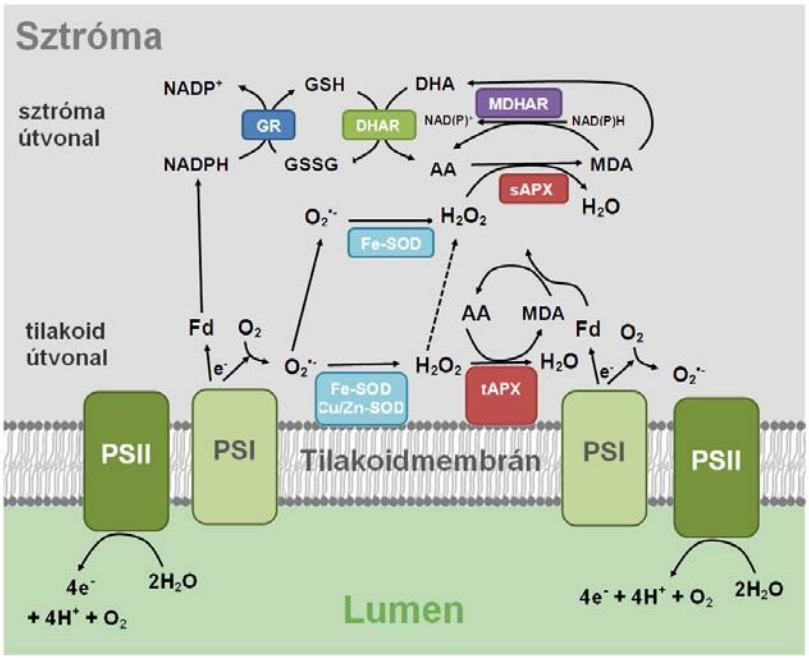
A fotoinhibíciót nemcsak önmagában a nagy fényintenzitás okozza, hanem abban fontos szerepet játszik a hőmérséklet, a víz- és tápanyag-ellátottság, valamint a széndioxid koncentráció is. Az alacsony hőmérséklet fotoinhibíciót elősegítő hatásának okára vonatkozóan három magyarázat kínálkozik. Az egyik szerint az alacsony hőmérséklet csökkenti a gerjesztési energia hasznosítását a szénanyagcsere során, ami közvetetten növeli a redukált Q_A részarányát, ami a fotoinhibíció fokozódásához vezet. A másik magyarázat szerint a hideg hatására a D1 protein turnovereáltali kijavítás sebessége erősen lecsökken. A harmadik lehetséges magyarázat az egyik – a következőkben tárgyalandó – védőmechanizmus, a xantofill ciklus működésével kapcsolatos, mely szerint a ciklus egyik tagja a zeaxantin képződése gátolt vagy késleltetett.

A fotoinhibíció elleni védő mechanizmusok. A növények a nagy fényintenzitással szemben többféle adaptációs, védő mechanizmust fejlesztettek ki. A fénygyűjtő rendszert érő gerjesztési energiafelesleg károsító hatásának kivédése bekövetkezhet azáltal, hogy az energiafelesleg más, nem destruktív folyamatok útján adódik le, illetve úgy, hogy az energiának a két fotoszisztéma közötti eloszlása változik meg. Az energia felvételét és továbbítását a növény pl. a fénybegyűjtő protein-pool genetikai szintű szabályozásával, az LHC proteinek foszforilációjával és defoszforilációjával, vagy a PS II-ről a PS I-re történő közvetlen energiaátadással (spillover*)* is tudja szabályozni.

A fotonok energiafeleslege másodlagosan relaxációs mechanizmusok révén hő formájában emittálódik, mely reakciók háttérbe szorítják az energiaátvitel lehetőségét az oxigénre és a pigmentekre. Az energiafelesleg a PS II-nek a tilakoidmembránon keresztül kialakuló protongrádiens okozta “leszabályozása” által is felhasználódhat. Ezek a relaxációs (nemfotokémiai kioltó) mechanizmusok disszipálják a legtöbb energiafelesleget, de korántsem az összeset. Ha a gerjesztési energiának csak egy kis hányada is az oxigénre kerül, akkor a gerjesztett, reaktív oxigén molekulák akár a sztrómában, akár a tilakoidokban más molekulákat támadnak meg. Az elsődleges target molekulák a sztrómában a Calvin-ciklus tiol-enzimei, a fruktóz-1,6-biszfoszfatáz és a glicerinaldehid-3-fiszfát-

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

dehidrogenáz, míg a tilakoidmembránokban a D1 protein és a PS I reakciócentrum komplexe. A target molekulák védelméhez a reaktív molekuláknak a keletkezésük helyén történő azonnali, gyors eliminálása szükséges. A reaktív oxigén formákat – részben – egy több tagból álló antioxidáns rendszer ártalmatlanítja. Ezt a védőrendszert Halliwell-Asada ciklusnak nevezik, aminek egyes komponensei mind a sztrómában, mind pedig a gránumtilakoidokhoz kötve megtalálhatók (10.10. ábra).



10.10. ábra A tilakoid membránokhoz kötött illetve a sztrómában működő antioxidáns enzimrendszer (Halliwell-Asada ciklus) működése a kloroplasztiszban. Jelölések: Fd: ferredoxin, GR: glutation reduktáz, DHAR: dehidroaszkorbát reduktáz, MDHAR: monodehidroaszkorbát reduktáz, SOD: szuperoxid diszmutáz, sAPX, ill. tAPX: sztrómában ill. a tilakoidokban működő aszkorbátperoxidáz.

Az aszkorbát és a glutation nem használódik fel a ciklus működése során, de részt vesznek redukáló ekvivalensek ciklikus átvitelében. A H_2O_2 bontása e ciklusban az aszkorbátperoxidáz révén történhet. A peroxidázoknak melyek a sejtben mindenütt előfordulnak sokkal nagyobb az affinitásuk a H_2O_2 -hoz, mint a CAT-nak. A peroxidázok működéséhez azonban egy reduktáns szükséges, mivel a H_2O_2-t vízzé redukálják.

Az aszkorbátperoxidáz (APX) két molekula aszkorbátot használ egy molekula H_2O_2 vízzé oxidálásához, két molekula monodehidroaszkorbát (MDHA) egyidejű keletkezése mellett. MDHA egy rövid életidejű gyök, ami ha gyorsan nem lép mással reakcióba, akkor diszproporcionálódik aszkorbáttá és dehidroaszkorbáttá (DHA). A monodehidroaszkorbát (MDA) gyök anionos formában fordul elő a sejt pH viszonyai között.Az MDHA a plazmamembránon, vagy a tilakoidmembránon közvetlenül aszkorbáttá redukálódhat. Az elektron donor b-típusú citokróm, redukált ferredoxin, vagy a NAD(P)H lehet.

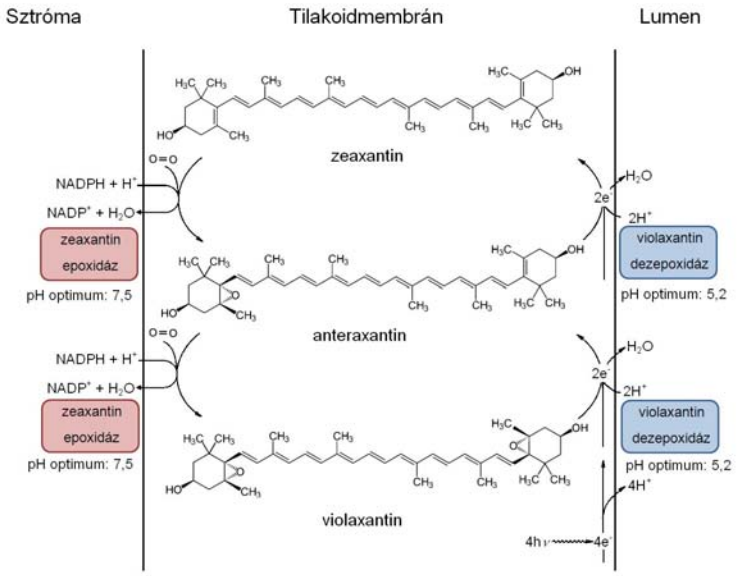
A ciklus komponensei előfordulnak membránhoz kötötten és a kloroplasztisz sztrómában is.

A kloroplasztisz mind a tilakoidokban, mind a sztrómában megfelelő gyökfogó rendszerekkel rendelkezik az aktív gyökök eliminálására. Ha a tilakoidális rendszer nem hatástalanítja a reaktív gyököt, akkor a sztrómában működő rendszer eliminálja azokat, és védi meg ezáltal a Calvin ciklus számos, az aktív gyökökre nézve érzékeny enzimét, mint pl a glicerinaldehid-3-foszfát-dehidrogenázt, a fruktóz-1,6-biszfoszfatázt, és a ribulóz-5-foszfát-kinázt.

A triplet gerjesztett klorofillmolekulákat a tilakoidokban elsősorban a karotinoidok eliminálják, átvéve azok gerjesztési energiáját és megakadályozva ezáltal a szinglet oxigén képződéséhez vezető reakciójukat a molekuláris oxigénnel. A fotoinhibíció elleni további védelmet az oxidált target molekulák kijavítása vagy reszintézise jelent. Erre jó példa az oxidált fruktóz-1,6-biszfoszfatáz és más tiol-enzimek tioredoxin általi kijavítása. A másik ilyen jellegű folyamat a D1 protein degradáció utáni gyors helyreállítása. A karotinoidok védő szerepe úgy is

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

érvényesülhet, hogy közvetlenül magával a szinglet oxigénnel lépnek kölcsönhatásba. A karotinoidok védő szerepének egy további módja a xantofill ciklus révén valósul meg (10. 11. ábra).



10.11. ábra A xantofill ciklus lokalizációja és működése a tilakoidmembránban.

A fényintenzitásra adott gyors növényi válaszok keresése során viszonylag korán felismerték egyes xantofillok mennyiségének jellegzetes időbeli változásait, amennyiben erős fényen zeaxantinakkumulációt észleltek, amit a violaxantin mennyiségének csökkenése kísért. Fotoinhibíció körülményei közt, azaz, ha a növényt gerjesztési energiafelesleg éri, a violaxantin anteraxantinon át zeaxantinná dezepoxidálódik. Ez a folyamat akkor következik be, amikor a fény által működtetett protonpumpa a tilakoidlumen pH-ját 5,2 körüli értékre csökkenti. A dezepoxidációt végző, a tilakoidmembrán lumen felőli oldalán lokalizált violaxantin-dezepoxidáz enzimnek ugyanis ez a pH-optimuma. A dezepoxidáz a pH-tól függően (pH 7,0 körül) a lumenben mobilis, de a pH csökkenésekor, amikor a tilakoidmembrán két oldala közt pH-gradiens alakul ki, membránkötötté válik. E reakciónak a fordítottja, a violaxantin képződéséhez vezető epoxidáció, akkor következik be, ha a növény sötétben van, vagy akár csak limitáló a fény mennyisége a fotoszintézis számára. Ilyenkor a lumen pH-ja megnő, a dezepoxidáz szűk pH-optimumától eltér, így az enzim működése leáll. Ugyanakkor a zeaxantin a zeaxantin-epoxidáz működése révén violaxantinná epoxidálódik, mivel az epoxidáz pH-optimuma magasabban, 7,5 körül van. Az epoxidáz a tilakoidmembrán sztróma felőli oldalán lokalizált. Az epoxidáció nem-enzimatikus úton is bekövetkezhet, és a reakcióban részt vevő oxigén származhat magukból a reaktiv oxigén formákból, sőt zsírsavak epoxicsoportjaiból is. A fényviszonyoktól függően az említett xantofillok epoxidációja és dezepoxidációja egy ciklust valósít meg. A xantofill ciklus (más néven violaxantin ciklus, epoxid ciklus) komponensei: a violaxantin (diepoxi-zeaxantin), az anteraxantin (monoepoxi-zeaxantin) és a zeaxantin (dihidroxi-β-karotin).

Azt is tapasztalták, hogy a zeaxantin-képződés jól korrelál a klorofill-a által emittált fluoreszcencia hozamának csökkenésével, tehát a zeaxantin képződésekor fluoreszcencia csökkenés, kioltás következik be. A fluoreszcenciakioltásnak az lehet az oka, hogy maga a zeaxantin fokozza a nem-radiatív energiadisszipációt, nem-fotokémiai kioltást okoz. De kiválthatja a kioltó hatást a különböző pigmentek asszociációjának megváltozásán keresztül a tilakoidmembrán konformációváltozása is. A zeaxantin mennyiségének és a nem-fotokémiai kioltásnak a kapcsolatát a legkülönbözőbb növényeken kimutatták, napszakos ritmusú korrelatív változásukat bizonyították.

A ciklus hatékony működése függ a benne részt vevő xantofillok mennyiségétől. A violaxantin+anteraxantin+zeaxantin (V+A+Z) készlet mérete viszont függ a fényviszonyoktól és befolyásolja a szárazság, valamint a kedvezőtlen hőmérséklet is. Fényadaptált növények V+A+Z készlete kb. négyszer nagyobb, mint az árnyéknövényeké. Extrém módon árnyékadaptált növények alacsony V+A+Z készlete az oka az ilyen növények rendkívül kis mértékű nem-radiatív energiadisszipáló képességének, nagyobb fotoinhibíciós érzékenységének. A V+A+Z készlet mérete a fény feleslegétől függ. Arra lehet tehát gondolni, hogy a fokozott karotinoidszintézishez vezető lépéseket a fényenergia feleslegétől függő tényező, a xantofill ciklus alacsony

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

epoxidációs állapota triggereli. A xantofill ciklus pigmentjei a fényfeleslegre adott reakcióban dinamikus változásokat mutatnak, nemcsak rövid távon a reverzíbilis dezepoxidáció révén, de hosszú távon a pool méretének változásai révén is.

A C3-as növények fotodestrukció elleni védelmében a fotorespiráció is szerepet játszik, különösen, ha a CO_2 mennyisége limitált. A védelem azáltal valósul meg, hogy a CO_2-nek a fotorespiráció általi reciklizációja a gerjesztési energiafelesleget felhasználja.

10.5. A nehézfémek okozta stresszek

Nehézfémek alatt általában azokat a fémeket értjük, melyek sűrűsége elemi formában 5,0 g cm^{-3} felett van. (Meg kell azonban jegyezni, hogy a szakirodalomban esetenként más határértéket is használnak.) E fémek közül a növények számára a Cu, Fe, Mn, Mo és a Zn esszenciális. Ezeken kívül vannak még olyan elemek, melyeket csupán egyes növénycsaládok, nemzetségek fajai igényelnek. Az esszenciális nehézfémek lehetséges koncentrációjának – miként minden más környezeti faktornak is – két olyan tartománya van, ami a növénynek stresszhelyzetet jelent. Az egyik az adott elemnek a szükségesnél alacsonyabb koncentrációja, ami hiánytüneteket okoz, a másik természetesen az optimálisnál magasabb koncentráció, ami mérgezési tüneteket vált ki. A nem-esszenciális elemek esetében hiánytünet nyilván nem lép fel, csak toxikus hatásaik vannak.

10.5.1. A nehézfémek fiziológiai hatásai

Milyen gátló hatásokat gyakorol a nehézfém-felesleg a növényekre? A legrégebben ismert hatás az, hogy a nehézfémek más – eszenciális – elemek gyökér általi felvételét befolyásolják. Ez a hatás abban az esetben áll fenn, ha a két elemnek esetleg közös szállítója van. Ezt feltételezik a Cd, illetve a Cu és a Zn esetében.

Másik lehetséges hatás azon alapul, hogy egyes nehézfémek szabad oxigéngyököket generálnak. Ez történhet autooxidációval, vagy H_2O_2 redukciója révén:

$Cu^{+} + O_2 \rightarrow Cu^{2+} + O_2^{\bullet -}$,

$Cu^{+} + H_2O_2 \rightarrow Cu^{2+} + OH^{-} + OH^{\bullet}$.

A nehézfémek emellett a lipidperoxidáció iniciátorai is lehetnek, mely reakció során a stabil lipidperoxidokból (LOOH) nagyon reakcióképes szabad alkoxi- és peroxigyökök keletkeznek:

$Cu^{+} + LOOH \rightarrow Cu^{2+} + OH^{-} + LO^{\bullet}$,

$Cu^{2+} + LOOH \rightarrow Cu^{+} + H^{-} + LOO^{\bullet}$.

E reakciók következtében a membránok permeabilitása megváltozik, megnő a K^{+}-efflux. Ilyen hatása van a fenti példában említett rézen kívül az ezüstnek és a higanynak is.

A nehézfémfelesleg számos enzim működését is gátolhatja. A ribulóz-1,5-biszfoszfát-karboxiláz/oxigenáz Mg^{2+}-át más fémek, mint pl Mn^{2+}, Co^{2+} és a Ni^{2+} kiszoríthatják és az enzim karboxiláz aktivitása lecsökken. Ez azért következik be, mert az enzim karboxiláz aktivitása az aktív centrumban található két SH csoporttól, valamint az enzimnek Mg^{2+}-mal, és a CO_2-vel kialakuló komplexének képződésétől függ. Az enzim oxigenáz funkciója azonban érintetlen marad. A fotoszintézis vízbontó enzimének normális működéséhez 5–8 Mn szükséges 400 klorofillmolekulára vonatkoztatva. Bab növényekben a tilakoidmembránokban a Mn:Zn arány 1:1 volt, míg cinkstresszelt növényben 1:12. Ez az eltolódás azt eredményezte, hogy a Mn-t a Zn helyettesítette, és ez fiziológiai mangánhiányt okozott.

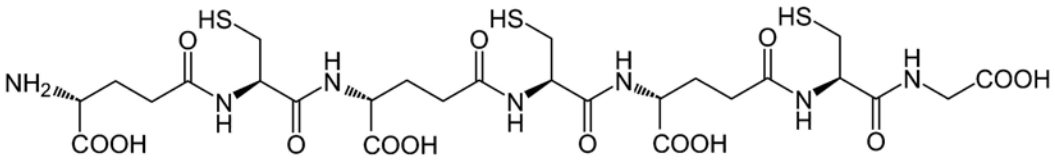
A fotoszintetikus apparátus optimális működése egy sor fém-, illetve nehézfémiont igényel, mint pl. Mg-t a klorofillok központi atomjaként, Fe-t a citokrómok és a ferredoxinok, Cu-t a plasztocianin és Mn-t a vízbontó enzim nélkülözhetetlen elemeként. Ezeken kívül a normális fotoszintetikus működés során is képződő szuperoxid anion gyökök folyamatos eliminálásához Cu-Zn szuperoxid-diszmutáz enzim szükséges. A Cu és más nehézfémek feleslege csak azt követően fejt ki komolyabb stresszhatást, ha a gyökérfunkciókat már jelentős mértékben károsította. Ezért a kloroplasztisznak a nehézfémfeleslegre adott reakcióit elsősorban *in vitro* vizsgálták. A nehézfémek *in vivo* nagyon specifikusan hatnak egyes folyamatokra. A klorofill-bioszintézis kezdeti szakaszán működő δ-amino-

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

levulinsav-dehidratáz SH-csoportjait a Cd, Pb és a Hg is képes blokkolni. Mindennek következményeként a klorofillszintézis gátlódik, sőt másodlagos hatásként a kloroplasztisz finomszerkezete is károsodik.

A fémkötő proteinek és polipeptidek, valamint egyes karbonsavak kelátképzés révén "kapcsolják ki" a nehézfémeket, mely komplexek a vakuólumba kerülve különülhetnek el a sejtnek az anyagcsere szempontjából aktív részéből. Ilyen funkciójuk van a fitokelatinoknak. A fitokelatinok olyan fémkötő polipeptidek, melyek a felesleges és toxikus fémionok megkötésében, kizárásában, elkülönítésében vesznek részt. Hasonlóan működnek a metallotioneinek is.

A növényekben talált nehézfémkötő polipeptidek, a fitokelatinok, nem protein jellegűek, azaz a peptidkötés a benne résztvevő glutaminsav gamma-karboxil csoportja részvételével és nem az alfa-karboxil csoportjával alakul ki. Az egyik fitokelatin szerkezete a 10. 12. ábrán látható.



10.12. ábra Egy fitokelatin molekula szerkezete

A fitokelatinképzés képessége a vörös, zöld és barna algáktól kezdve a magasabb rendű növényekben megtalálható. A fitokelatinok szerepe abban van, hogy mintegy kompként szállítják a nehézfémionokat a citoplazmából a vakuólumba, ahol azok legtöbbször szerves sav ligandumokhoz kötődnek. Ez azáltal válik lehetségessé, hogy alacsony vakuólum pH-nál a protonok helyettesítik pl. a Cd-ot a fitokelatin tiolát ligandumán, és a Cd ezután kötődhet más ligandumokhoz pl. citráthoz, maláthoz stb.

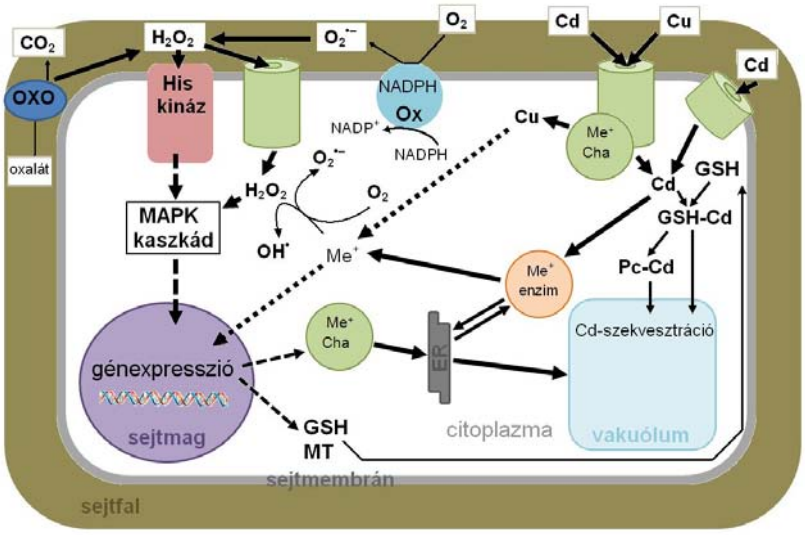
10.5.2. A nehézfém-hatások szignáltranszdukciója vázlatosan

A növények a Cu-t specifikus transzportrendszer segítségével veszik fel. A sejten belül a chaperonok szállítják a tárolási helyekre, illetve az olyan enzimekhez, melyek Cu kofaktort igényelnek, mint amilyen pl. a CuZn-SOD, vagy pl. az etilén receptor. A szabad Cu ionok a sejt számára a már említett szabad oxigén gyökképződés miatt rendkívül veszélyesek. A szabad Cu-ről feltételezik azt is, hogy bizonyos transzkripciós faktorokhoz képes kötődni, amelyek a fémkötő ligandumok (pl. metallotioneinek) transzkripcióját, vagy olyan enzimekét aktiválják, melyek a glutation és ezáltal a fitokelatinok bioszintéziséhez, tehát védő funkciójú anyagok szintéziséhez szükségesek.

A Cd-nak nincs specifikus transzportere (10.13. ábra). A Cd a sejtbe valószínűleg a Fe és a Zn transzporterein, valamint Ca-csatornákon keresztül jut be. Közvetlenül nem vesz részt a sejt redox-reakcióiban, de egyes redox-szenzitiv enzimeket a tiol-csoportokhoz való kötődés révén inaktivál. Nagy affinitása a szulfhidril csoportokhoz – hasonlóan a Cu felesleg hatásához – redukált glutation hiányához, és ezáltal H_2O_2 akkumulációhoz vezet. Mivel a Cd olyan kétértékű kationokat, mint a Ca, Cu és a Fe helyettesíteni képes, a Cd ezen szabad átmeneti fémek koncentrációjának növelése révén oxidativ stresszt is kiválthat. Ez magyarázza azt, hogy a sejt redox egyensúlyának az átmeneti fémek feleslege által kiváltott felborulását érzékelő rendszer Cd hatására aktiválódik.

A Cu és a Cd a különböző felvételi utak ellenére részben közös szignáltranszdukciós utat indít be. A nehézfémek és más stresszek pl. a szárazság, az oxidativ stressz jelátviteli útjai között kereszteződések, találkozások (cross talk) vannak, amennyiben ezek az utak mindegyike jelátvivőként ABA-t és H_2O_2-t is használ. Az, hogy a különböző stresszorok hatásának kivédésére a növény a jelátvivő anyagok hálózatát alkalmazza, feltehetőleg evolúciós előnyt jelent a folyamatosan változó környezetben, azáltal, hogy egy specifikus stressz-szignál általánosabb sejtválaszt vált ki, ami szélesebb körű (pleiotrop) védekezést eredményez. Egy igy működő rendszer kevésbé van kitéve kiesésnek, hibának, de egyúttal nem feltétlenül minden válasz esszenciális az adott stresszhez való akklimációhoz és a túléléshez.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



10.13. ábra A Cu és a Cd hatására beinduló szignáltranszdukciós utak. Jelölések: OXO oxalátoxidáz, Me: fémion általában, GSH: red. glutation, MT. metallotionein, Pc: fitokelatin, Cha: chaperon

10.6. Oxidatív stresszek és kivédésük

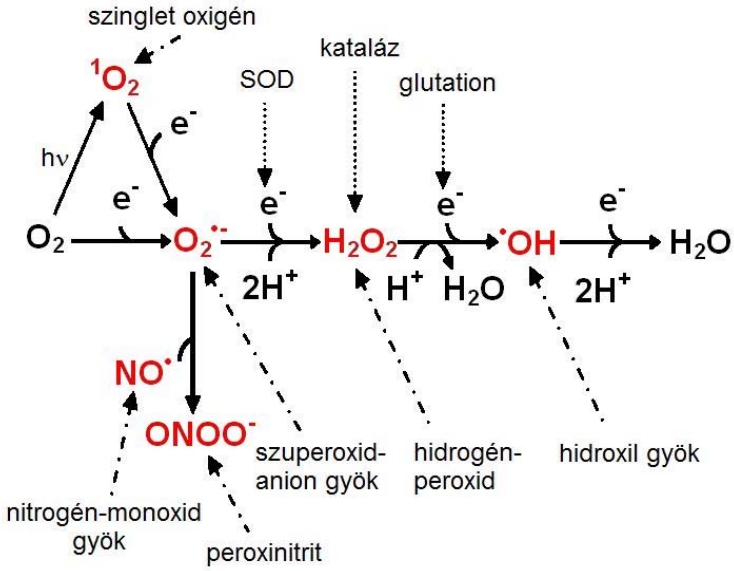
10.6.1. Az oxigén aktiválása

A földi élet egyik paradoxona, hogy az aerob életet fenntartó molekula, az oxigén nem csak esszenciális az energia anyagcsere és a légzés számára, de ugyanakkor számos káros hatása is van. Az atmoszférikus oxigén azzal is megkülönböztethető a többi gáztól, hogy két párosítatlan elektronja van. Ezen az állapoton alapul, hogy az oxigén szerves molekulákkal szinte alig lép kapcsolatba, reakció csak az oxigén aktiválása után következik be.

Az aktiválatlan oxigén kettősgyök, ami triplet alapállapotban van, mivel az elektronok spínje párhuzamos. Az oxigén aktiválása két mechanizmussal történhet: vagy elegendő energia abszorbciójával, ami az egyik párosítatlan elektron spinjének megfordulását okozza, vagy egyértékű redukcióval. Ha a triplet oxigén egyik párosítatlan elektronjának a spinje megfordul, akkor a molekula szinglet állapotba kerül, amikor is a két elektronnak ellentétes a spinje. A másik aktivációs mechanizmus az oxigén lépésenkénti egyértékű redukciója szuperoxidot ($O^{-}{}^{*}{}_{2}$), hidrogénperoxidot (H_2O_2), hidroxil gyököt (*OH) és végül vizet eredményez (10.14. ábra).

A hidrogénperoxid könnyen átjut a membránokon, ezért nem kompartmentalizálódik a sejtben. Számos enzim (peroxidázok) hidrogén-peroxidot használnak szubsztrátként oxidációs reakciókban. Belőle egy elektron felvételével OH gyök és OH^- ion keletkezik, majd egy újabb elektron és H^+ révén pedig H_2O.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



10.14. ábra A növényekben képződő fontosabb aktív oxigén formák és egyes enzimek, illetve reduktánsok kapcsolata az aktív oxigén formákkal.

A $^1O_2$ és a $OH^{\bullet}$, leggyakrabban a fénystressz körülményei között keletkeznek a kloroplasztiszokban és nagy reakcióképesség jellemzi őket. Ezek a molekulák a diffúzió limitálta sebességgel reagálnak, ami azt jelenti, hogy a reakció a reaktív molekula keletkezési helyén bekövetkezik még azok diffúziója előtt. Életidejük nagyon rövid, mert rendkívül gyorsan kölcsönhatásba lépnek a vízzel, vagy a sejt más komponenseivel. A diffúziójukat, valamint a target molekulákkal való reakcióikat megelőzendő fejlesztették ki a növények védő rendszerüket, ami a keletkezési helyükön, még esetleges diffúziójuk előtt megfogja őket. A $O_2^{\bullet-}$ és a H_2O_2 toxicitása abban van, hogy olyan láncreakciókat indítanak be, melyekben további reakciók beindítására képes gyökök keletkeznek.

10.6.2. Az aktivált oxigénformák képződési helyei

A kloroplasztiszokban a PSII oxidáló oldalán történik négy elektron átmenete a vízről a reakció centrumba, amikor is triplet oxigén termelése történik. Szinglet oxigén a triplet állapotú klorofill-a-nak molekuláris oxigénnel történő reakciója során keletkezhet, elsősorban akkor, amikor a növényt nagyobb gerjesztési energia éri, mint amennyit az elektrontranszport lánc el tud vezetni. Csekély mértékben szuperoxid is képződhet itt bizonyos körülmények között.

A fény által gerjesztett klorofill-a molekulák normál körülmények között a fotoszisztémák reakciócentrumába vezetik a gerjesztési energiát, de ha az elnyelt energia hasznosítása az elektrontranszport láncon keresztül bármilyen okból kifolyólag gátolt, ez az energia triplet klorofill képződésén és annak triplet oxigénnel történő reakciója révén szinglet oxigén képződéséhez vezet.

A molekuláris oxigén a PS1 redukáló oldalán elektronakceptorként is funkcionálhat. Az oxigénnek ez a fotoredukciója, amit pszeudociklikus elektrontranszportnak, vagy Mehler reakciónak is neveznek, a ferredoxin közvetítésével következik be és szuperoxid anion gyök képződését eredményezi. Ez az oxigén redukció (aktiválás), különösen akkor következik be, ha a NADP mennyisége a limitáló tényező. Ez fordul elő akkor, amikor a Calvin ciklus nem tudja olyan gyorsan felhasználni (oxidálni) a NADPH-t, mint amilyen tempóban azt a PS I termeli. A $O_2^{\bullet-}$ szintén rövid féléletidejű, közepesen reakcióképes oxigénforma nem jut át a sejtmembránon, oxidálja a [4Fe-4S] centrumokat, miközben melléktermékként H_2O_2 képződik. A H_2O_2-ból Fe^{2+}-ionok jelenlétében $OH^{\bullet}$-gyök keletkezik. Ezek a ROS-ok proteinek, a lipidek és a nukleinsavak oxidatív károsodását okozhatják.

A mitokondriumokban a legtöbb oxigént a citokróm oxidáz használja fel. A peroxiszómák és a glioxiszómák olyan organellumok, melyek a zsírsavak béta-oxidációjának, valamint a glikolsav-ciklusnak az enzimeit tartalmazzák,

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

így a glikolsav oxidázt, a katalázt és különböző peroxidázokat. A glikolsav oxidáz működése során hidrogénperoxid keletkezik.

A szuperoxid termelő NAD(P)H oxidáz aktivitást a plazmalemma frakcióban egyértelműen kimutatták. Ezek a flavoproteinek szuperoxidot termelnek. Sebzés, hősokk vagy xenobiotikumok átmenetileg aktiválhatják ezt a szuperoxid termelő reakciót. Kimutatták azt is, hogy ezek a reakciók szignálként is szolgálhatnak egyes stresszekre adandó válaszok számára.

A sejtfalak is az anyagcsere viszonylag aktív helyei, így oxigénaktiválás ott is történik. E reakciók közül számos a patogének elleni védelmet szolgálja. Más oxidációs reakciók egyes xenobiotikumok kompartmentalizálását, illetve degradációját szolgálják. De leginkább bioszintetikus folyamatok zajlanak a sejtfalban. Például a lignin fenilpropanoid prekurzorait hidrogénperoxid függő reakciók kötik össze. NADH képződik a sejtfalban működő malátdehidrogenáz révén is, amit aztán hidrogénperoxid képzésre fordít a plazmalemma NADH-oxidáza.

10.6.3. Az oxidatív stressz elleni védőmechanizmusok

Antioxidánsnak az olyan anyagokat nevezzük, melyek úgy képesek az aktiv oxigén formákkal reakcióba lépni, hogy közben önmaguk nem alakulnak gyökké. Antioxidáns enzimek azok az enzimek, melyek ezeket a reakciókat katalizálják. Az antioxidánsok és az antioxidáns enzimek funkciója tehát a szabályozatlan oxidációs láncreakció (kaszkád) megszakítása.

Ha a növények nem rendelkeznének az aktív oxigén formákat kivédő rendszerekkel, akkor azok átmeneti felszaporodása miatt ún. oxidative burst következne be. Mit jelent ez? A szinglet oxigén a telítetlen zsírsavakkal és membránlipidekkel reagálva lipidperoxidokat képez, mely utóbbiak egy további reakciólánc révén lipidlebontáshoz vezetnek. A szuperoxid anion gyökök kevésbé reaktívak és nem képesek a telítetlen zsírsavláncokat peroxidálni. Károsító hatásuk elsősorban abban van, hogy belőlük keletkezik a sokkal reaktívabb $OH^{\bullet}$ gyök. Ezek a $OH^{\bullet}$ gyökök, közvetlen környezetükben minden szerves molekulával reakcióba lépnek, így a telítetlen zsírsavakat lipidgyökökké ($L^{\bullet}$) alakítják, melyek a triplet oxigén jelenlétében gyökös láncreakciót beindítva lipidperoxidgyököket ($LOO^{\bullet}$) generálnak.

Az antioxidáns védő rendszert hidrofil és lipofil antioxidánsok (aszkorbát, glutation, illetve α-tokoferol), detoxifikáló enzimek, enzim repair folyamatok és regenerációs folyamatok alkotják. Az aszkorbinsav, a glutation, az α-tokoferol olyan kismóltömegű antioxidánsok, melyek az AOS-eket közvetlenül képesek eliminálni.

Az aszkorbát a növényekben millimoláris koncentrációban fordul elő, mind a fotoszintetizáló, mind a nem-fotoszintetizáló szövetekben. Ez arra is utal, hogy képződése közvetlenül nem függ a fotoszintézistől. Legfontosabb funkciója, hogy antioxidáns, ami közvetlenül képes reagálni a hidroxil gyökkel, a szuperoxiddal és a szinglet oxigénnel egyaránt. Fontos szerepet játszik az átmeneti fémeket tartalmazó enzimek aktivitásának fenntartásában, valamint a nem-vizes fázisban jelentős antioxidáns, az α-tokoferol oxidált formájának redukciójában, ami a kloroplasztisz tilakoid membránjának fontos antioxidáns védőanyaga. Az aszkorbát nemcsak a toxikus szabad gyökök hatékony scavengere (gyökfogója), hanem a fényenergia felesleg elleni leghatékonyabb védelmet biztosító zeaxantin képződéséhez is szükséges.

A glutation redukált formája, a GSH, egy tripeptid (γ-glutamil-ciszteinil-glicin), ami az oxidált formával (GSSG) felváltva fordul elő. A növényekben a glutation élettani jelentősége kettős, az egyik a kén-anyagcsere, a másik a védekezés. A glutation a citoszólban és a kloroplasztiszban is szintetizálódhat. A sejt antioxidáns kapacitását a poolok mérete, valamint az anyagcserének az a képessége határozza meg, hogy mennyiben képes a poolokat redukált állapotban tartani.

A katalázok (CAT) konvertálják a H_2O_2-t vízzé és oxigénné, a maximális katalitikus sebességük nagyon magas, de kicsi a szubsztrátaffinitásuk, mivel a reakcióban két molekula H_2O_2 egyidejű kötődése szükséges az aktív helyen. A CAT hiánya a kloroplasztiszban kizárja szerepüket a Calvin-ciklus tiol-regulálta enzimeinek védelmében.

A $O_2^{\bullet-}$ és a H_2O_2 hatékony eliminálásához az antioxidáns enzimek összehangolt működése szükséges. A különböző kompartmentekben képződött szuperoxid a SOD működése révén gyorsan átalakul H_2O_2-dá. Olyan organellumban, mint pl. a kloroplasztisz, ami nagy koncentrációban tartalmaz aszkorbátot, a $O_2^{\bullet-}$ oxidációja az aszkorbát révén nagyon gyors. A $O_2^{\bullet-}$ diszmutációja semmi mást nem eredményez, mint az egyik destruktív ROS-t átalakítja egy másikká. Mivel a H_2O_2 egy erős oxidáns, ami gyorsan oxidálja a tiol csoportokat, nagymértékű felszaporodása

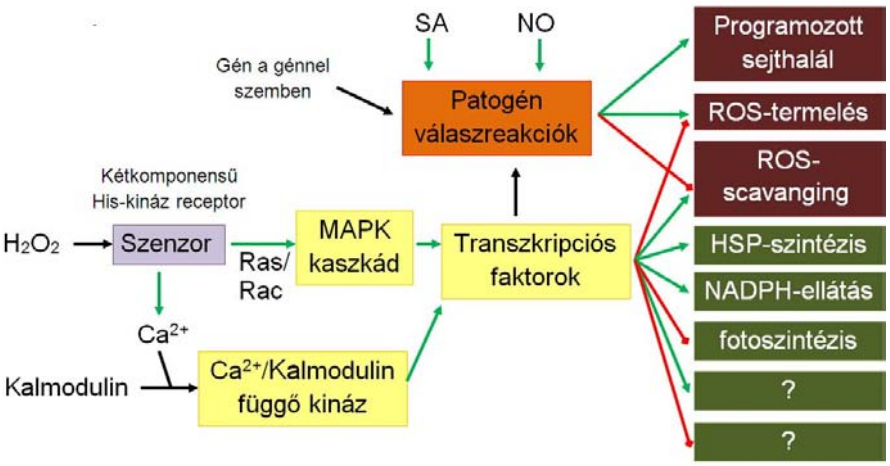
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

egy olyan organellumban, mint a kloroplasztisz, ahol a fotoszintézis menete számos tiol-regulálta enzimtől függ, nyilvánvalóan káros és nem kívánatos.

10.6.4. A szignáltranszdukció lehetőségei az oxidatív stressz során

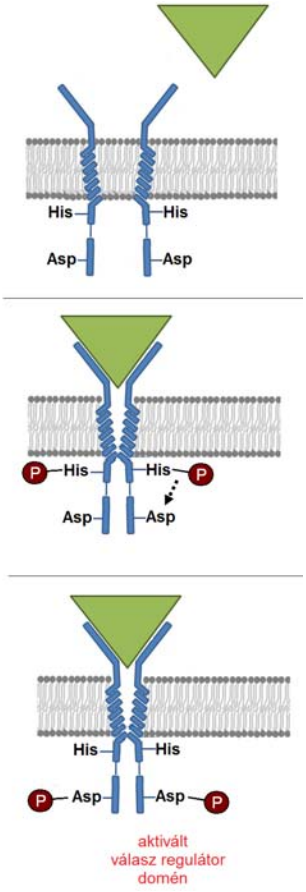
A 10.15. ábra az oxidatív stressz során beinduló szignáltranszdukciós lánc aktiválásának modelljét ábrázolja. A hidrogénperoxidot egy receptor érzékeli, ami egy kétkomponensű hisztidinkináz (HK), az élesztőhöz hasonlóan. A kétkomponensű HK-nak van egy érzékelő és egy transzmitter doménje, ami az ozmotikus stresszt, az etilént és a citokinineket is érzékeli (10.16. ábra)

Ez vezet kisméretű G proteineken (Ras/Rac) át a MAPK kaszkád aktiválásához, majd különböző transzkripciós faktorok aktiválásához, melyek különböző sejtfolyamatokat szabályoznak. A hidrogénperoxid érzékelése a Ca^{2+}- és a kalmodulinszint változásához, valamint a Ca^{2+}-kalmodulin-kináz aktiválásához, vagy indukciójához vezet, ami a transzkripciós faktorok aktiválását vagy szupresszióját válthatja ki. A génexpressziónak a transzkripciós faktorok általi regulációja különböző védő mechanizmusok indukcióját eredményezi, mint amilyen pl. a ROS-okat scavengelő proteinek, vagy hősokkproteinek szintézise, vagy éppen az aktív oxigén formákat termelő folyamatok szuppressziója. A ROS-ok általában részt vehetnek a génexpresszió szisztemin általi aktiválásában, ami patogén fertőzés, sebzés, vagy éppen erős fény hatására adott válaszként indul be.



10.15. ábra Szignáltranszdukció oxidatív stresszelt növényekben. SA: szalicilsav, NO: nitrogénmonoxid, a zöld nyilak a serkentést, a piros nyilak a gátlást jelentik.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



10.16. ábra A kétkomponensű hisztidinkináz receptor működése. A ligandum kötődése után a His-kináz foszforilálja a receptor membránon belüli részének hisztidinjét, ami a hozzá kovalensen kötött válaszregulátor aszparaginjait intermolekuláris foszforilációval aktiválja.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

11. fejezet - Univerzális és speciális növényi anyagcsere

szerző: Dr. Király István

(Vágújfalvi Dezső emlékének)

A rendkívül változatos növényi anyagcseretermékek csoportosítása, rendszerezése nem egyszerű feladat. Legelterjedtebb módja elsődleges (primer) és másodlagos (szekunder) növényi anyagokra osztani azokat. Elsődlegesek a közvetlenül, szervetlen vegyületekből képződők, mint például az egyszerű cukrok és aminosavak. Másodlagos anyag mindaz, ami már ezekből képződik, mint például a zsírok, fehérjék, alkaloidok. Gyakran használjuk még a primer (elsődleges) megjelölést a gyakori, jól ismert anyagokra (szénhidrátok, fehérjék), míg szekunder (másodlagos) anyagoknak a ritkább, különleges, kisebb mennyiségben képződő molekulákat nevezzük (például illóolajok, alkaloidok). Egy modernebb szemléletű csoportosítás szerint a másodlagos anyagok nem táplálék jellegű vegyületek, melyek elsősorban a fajok közti kölcsönhatásokban, együttélésben, koevolúcióban játszanak szerepet.

A hazai növényélettan kutatás kiemelkedő alakja, Vágújfalvi Dezső dolgozta ki a csoportosítás legújabb, és legteljesebb módját. Ez a rendszer univerzális és speciális anyagokra osztja a növényekben előforduló anyagcseretermékeket. Mindkét jelző csak a taxon megadásával értelmezhető, azaz például az alkaloidok univerzálisak az Amarillidaceae családban, de speciálisak a Zárvatermők törzsében.

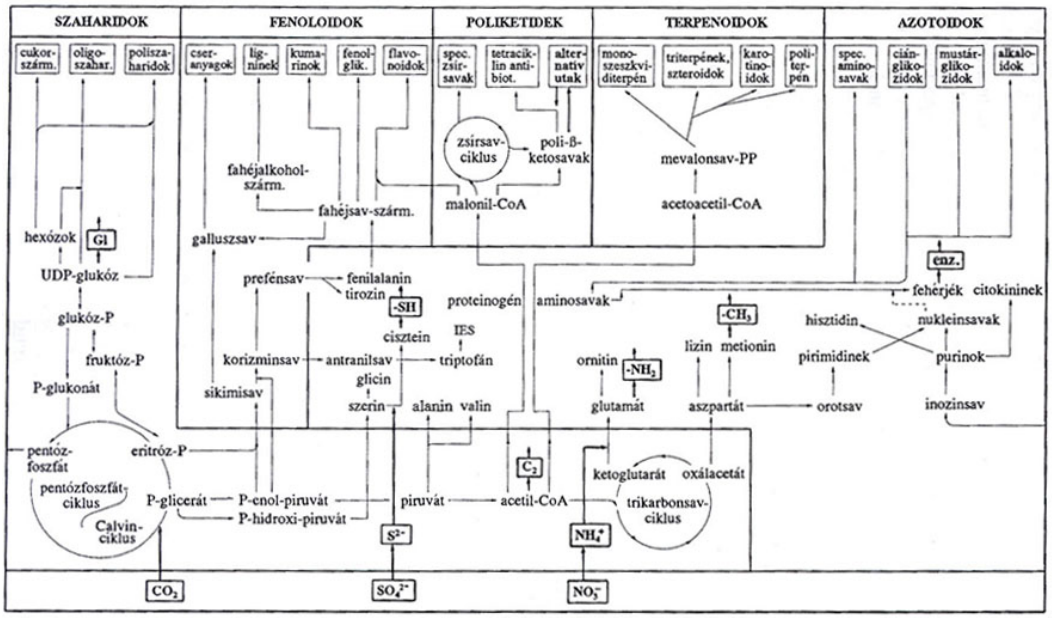
A gondolatmenetet tovább folytatva elvégezhető a növényi anyagok rendszerezése az élőlények rendszerével analóg módon, hasonló, vagy azonos rendszertani kategóriákat alkalmazva. Ez a megoldás összhangban van az élőlények rendszerezésében is uralkodó származástani, biogenetikai szemlélettel. Eszerint a növényi anyagok rokonsági fokát a képződésükhöz vezető anyagcsere utak hasonlósága dönti el. Ennek alapján sorolhatók az anyagfajok nemzetségekbe, családokba, rendekbe és törzsekbe. Az egyes anyag taxonok az azonos úton képződő anyagokat foglalják magukba. Ebben a rendszerben például a morfin (anyagfaj, species) a morfinán nemzetségbe (genus), a benzilizokinolinok családjába (familia), a tirozin eredetű alkaloidok rendjébe (ordo), az alkaloidok osztályába (classis), az azotoidok törzsébe (phylum) és a növényi anyagok országába (regnum) tartozik.

Adott anyagcsere termék képződése, így előfordulása a növények egy csoportjában nem jelenti azt, hogy ott jelentős mennyiségben van jelen. A növényi anyagok igen széles köre csak kis mennyiségben képződik, jelentős felhalmozódásuk sokkal ritkább. Általában igaz, hogy a magasabb rendszertani csoportokban univerzális anyagok mennyisége viszonylag nagy, a fajhoz közeli növény taxonokban előforduló speciális anyagok mennyisége többnyire csekély. A növények univerzális anyagcsere útjai (Calvin-ciklus, pentóz-foszfát ciklus, trikarbonsav ciklus) a fotoszintézis, légzés, nukleinsav anyagcsere folyamataihoz kapcsolódnak, de ezekből ágazik el az aminosavak és a nukleinsavakat alkotó bázisok szintézise is. A speciális anyagok képződéséhez vezető elágazások egyre alacsonyabb növényrendszertani csoportokban jelennek meg. Az univerzális anyagcsere utak általában egységesek, a speciális anyagok képződésekor egyre nagyobb számban jelennek meg az utak elágazásai, alternatív reakciósorok. A túlélés szempontjából alapvető anyagcsere folyamatok egységesek, „zártak”, a magasabb taxonokban univerzálisak, míg a talán kisebb jelentőségű, speciális folyamatok esetében a megoldások „színesebbek” változatosabbak.

A Vágújfalvi-féle Biogenetikai Rendszer törzsei a Szaharidok, Fenoloidok, Poliketidek, Terpenoidok és Azotoidok. Ezek anyagcsereútjainak kezdeti szakaszai vagy minden élőben, vagy a növényekben univerzálisak: a szaharid út első lépéseiben képződnek a fő szénhidrátok, a fenoloid út elején a proteinogén aromás aminosavak szintézise indul, a poliketid út kezdete a zsírsavciklushoz kötődik. A növényi anyagcsere utak összefoglaló ábráján (11.1. ábra) jól érzékelhető, hogy az ábra felső részén jelölt anyagcsoportok (törzsek, altörzsek) és a megfelelő anyagcsere utak között szoros a kapcsolat, a taxonok között éles az elhatárolódás. Az anyagfajok között (különösen a fenoloidok és azotoidok törzsébe tartozók esetében) viszont helyenként átfedéseket látunk. Az anyagcsere utak közös pontjainak jellegzetes példája az acetil-CoA, mely mind a poliketid út, mind a terpenoid út kiinduló vegyülete, ugyanakkor a trikarbonsav ciklus kulcsszereplője is. Az utak találkozásának, elágazásának tipikus példája a malonil-CoA, mely a poliketid út egyik korai intermediere, a flavonoid bioszintézis (fenoloidok törzse) pedig ebből a vegyületből indul. Ebből adódik a flavonoidok besorolása a poliketid cinnamoidok osztályába, a tisztán fenoloid eredetű cinnamoidok osztályától elhatárolva.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A biogenetikai rendszer jellegéből adódóan a növényi anyagok logikus csoportosítását adja, egyben bepillantást nyújt a növényi anyagcsere belső összefüggéseibe, az egyes anyagcsere utak között kialakult kapcsolódásokba, kölcsönhatásokba. Az alábbiakban a rendszer vázlatos ismertetésére kerül sor. A törzseket először táblázatos formában adjuk meg, minden rendszertani kategóriában egy, vagy több példával, a teljesség igénye nélkül. Ezt követi ugyancsak törzsenkénti bontásban a megfelelő anyagcsere utak rövid jellemzése.



11.1. ábra A növényi anyagcsere utak összefoglaló ábrája. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

11.1. Szaharidok

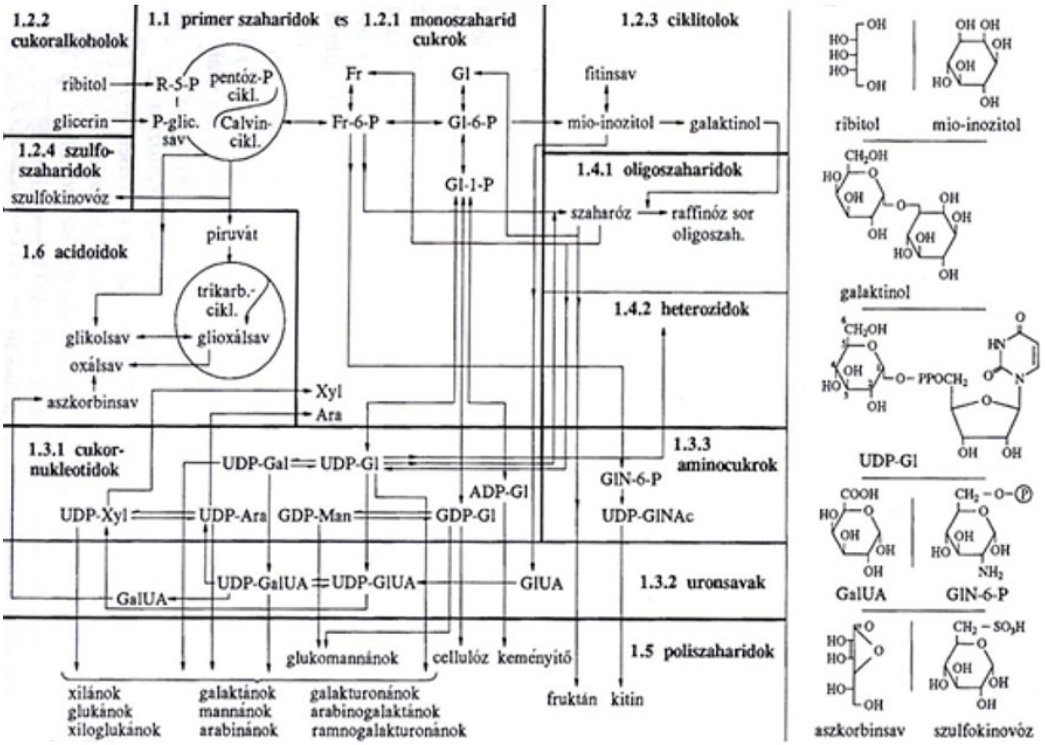
11.1. táblázat Szaharidok

I. törzs: Szaharidok	**Példák**
1. osztály: primer szaharidok C3-C7 cukorfoszfátok	glükóz-1-foszfát
2. osztály: monoszaharidok	
1. rend: monoszaharid cukrok	glükóz, fruktóz, xilóz
2. rend: cukoralkoholok	szorbitol, mannitol, galaktitol
3. rend: ciklitolok	mio-inozitol
4. rend: szulfoszaharidok	szulfokinovóz
3. osztály: intermedier cukorszármazékok	
1. rend: cukor nukleotidok	UDPGl, GDPGl, ADPGl, dUDP
2. rend: uronsavak	glukuronsav, galakturonsav
3. rend: aminocukrok	glükózamin, galaktózamin
4. osztály: glikozidok	
1. rend: holozidok	szaharóz, maltóz, cellobióz
2. rend: heterozidok	nukleozidok, antocián glikozidok, fenilglikozidok, szteroid glikozidok
5. osztály: poliszaharidok	

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

1. rend: homopolimer semleges szaharidok	keményítő, cellulóz
2. rend: heteropolimer semleges szaharidok	xiloglukán
3. rend: homopolimer nem semleges szaharidok	N-acetil-glükózamin
4. rend: heteropolimer nem semlegesszaharidok	ramnogalakturonánok
5. rend: glikoproteinek	-
6. rend: acidoidok	piroszőlősav, tejsav

Az intermedier anyagcsere számos C3-C7 cukorfoszfátja tartozik a **primer szaharidok (1. osztály)** közé, de legnagyobb mennyiségben a további szénhidrát szintézis kiindulási vegyülete a Glükóz-1-foszfát (Gl1P) fordul elő a növényekben. A Gl1P egyben a glikolízis és a pentózfoszfát sönt első intermedierje, s ebből képződnek a cukor nukleotidok is. Legelterjedtebb képviselőjük az UDP-glükóz (UDPGl), mely a glikozidos kötések között a legnagyobb szadadenergia mennyiséget tárolja (33.5 $kJ.mol^{-1}$), s nem véletlenül a legfontosabb cukor donor a poliszaharidok (cellulóz, keményítő, glukánok) szintézisében.



11.2. ábra A szaharidok bioszintézise és rendszere, néhány tipikus szaharid képlete. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

A szaharidok törzsének**2. osztályában** az **1. rend**, a **monoszaharid cukrok** talán a legfontosabb. Az ide tartozó glükóz, fruktóz a megfelelő cukorfoszfátokból defoszforilálással keletkezik elsősorban, de képződhet a poliszaharidok lebontása során is. Vagyis képződés, biogenezis szempontjából az elsődleges (primer) szaharidok után következnek.

A **cukoralkoholok (2. rend)** monoszaharid-cukrokból és cukorfoszfátokból képződő C3-C7 vegyületek. Képződésükben dehidrogenáz enzimek játsszák a főszerepet. A szaharóz és más oligoszaharidok mellett a növényen belül csak ezek szállítódnak. A glükóz oxocsoportjának redukciójából származtatható a glucitól, vagy szorbitol, a mannózból a mannitol, a galaktózból a galaktitol.

A **ciklitolok (3. rend)** gyűrűs C6 cukoralkoholok. Legismertebb képviselőjük a mio-inozitol, melyet a cikláz enzim képez Gl6P-ból, s ebből képződik a többi ciklitol. Hexafoszfát észtere a fitinsav a gabonafélék magvainak fontos tartalék tápanyaga. Az inozitol foszfatidjai fontos másodlagos jelátvivők.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A **szulfoszaharidok (4. rend)** eddig egyetlen ismert növényi képviselője a cianobaktériumok tilakoid membránjában előforduló szulfokinovóz.

Az **intermedier cukorszármazékok (3. osztály)** meglehetősen heterogén egység, legfontosabb csoportjuk a **cukor nukleotidok (1. rend).** Nagyenergiájú kötésük teszi lehetővé, hogy az összetett cukrok, poliszaharidok képződésének legfontosabb donorai legyenek. Cukorfoszfátokból és nukleotid trifoszfátokból képződnek (Gl1P+ UTP =UDPGl + ppi). Az uridin mellett kisebb mértékben a többi bázis is szerepelhet donorként (GDPGl, ADPGl stb.) de két dezoxi-ribonukleotid (dUDP és dGDP) is lehet cukor donor. A cukrok sztereoizomerjeinek egymásba alakítása (epimerizáció) is ilyen vegyületekből történik: UDPGl ↔ UDP-galaktóz. Az UDPGl a forrása a pektinek építőelemének, a galakturonsavnak (GalUA), mely oxidáció hatására NAD^+ közvetítésével jön létre. Ez, és a glukuronsav (GlUA) az **uronsavak (2. rend)** legfontosabb képviselője. Az uronsavak közös jellemzője, hogy láncvégi karboxil csoportot tartalmaznak. Szabad monomer formában alig fordulnak elő. A pektin α-1,4 kötésekkel összekapcsolódó galakturonsav monomerekből épül fel, melyeket kis számban ramnóz vált fel, s ehhez további ritkább cukrok (galaktóz, arabinóz, xilóz) kapcsolódhatnak, ezért is nevezzük heteropoliszaharidnak.

Az E440 élelmiszer adalék (lekvárok, gyümölcsízek) nagyrészt pektin, és növényi termésekből, módosult gyökerekből készül. Glükózból képződik a növényi védekező rendszer egyik kulcs molekulája az aszkorbinsav (C-vitamin). Először glukonsav (oxidáció), majd gulonsav (redukció) képződik, ezután gulonsav lakton (gyűrűzáródás), s végül aszkorbinsav (oxidáció). Az aszkorbinsav, a káros oxigénformák semlegesítésekor (és számos más folyamatban) képződő H_2O_2 lebontását végző Aszkorbát-ciklus (Halliwell-Asada ciklus) tagja. A ciklus során oxidálódó aszkorbát glutation, és végső soron NADH terhére regenerálódik.

A növényekben kis mennyiségben előforduló **aminocukrok (3. rend)** a galaktózamin, a glükózamin és származékaik. Az aminocukrok a primer szaharidokból képződnek: Fruktóz-6-P+glutamin ↔ glukózamin-6-P. Az aminocukrok a növényi intermedier anyagcserében csekély szerepet játszanak, ugyanakkor a talaj szerves nitrogénforrásainak 8-12%-át adják.

A csak egyszerű cukrokból felépülő, 2-7 tagú oligoszaharidok (**4. osztály glikozidok 1. rend, holozidok**) legfontosabb képviselője a szaharóz (nádcukor, répacukor), glükózból és fruktózból álló diszaharid. A glükóz mellett a növények legfontosabb transzport cukorszármazéka.

A növények szerveik többségében „érzékelik" a glükóz és a szaharóz szintet, és reagálnak azok változásaira. A forrás szövetek (pl. fotoszintetizáló alapszövet) általában többlet glükózt, keményítőt állítanak elő, a szívó szövetek (pl. gyökér) többnyire „importból" fedezik szénhidrát igényüket. A szaharóz felesleg például keményítő termelést serkent. A szaharózban a glükózt és fruktózt összekapcsoló kötés nagyenergiájú, s ennek révén UDP-vel képes reagálni, s átadni annak egy glükózt. Az UDPGl ezután Gl1P-tá alakul, majd ebből ADPGl jön létre, ami már képes közvetlenül a keményítő lánchoz kapcsolni a glükózt. Ez a reakciósor nem igényel energia befektetést, csupán a szaharóz nagyenergiájú kötését használja fel. A folyamat elején felszabadult fruktózt azonban csak 2 ATP elhasználásával képes glükózzá alakítani, és keményítőbe beépíteni a növény.

A baktériumok, gombák, rovarok legfontosabb diszaharidja, a trehalóz α-1,1-kötéssel kapcsolódó két glükózból áll. Rendkívül hatékonyan védi a membránokat a vízvesztés eredményeképp létrejövő sérülésektől. A növények rendelkeznek a szintéziséhez szükséges enzim apparátussal, ezek a fehérjék azonban csak egyes életfolyamatokban (pl. embrió érés), rövid ideig aktívak. A trehalóz szintézis terméke a trehalóz-P megzavarja a növény cukorérzékelő rendszerét, például a hexózokat aktiváló hexokináz enzimeken keresztül. Ezért a növényi sejtbe bekerülő trehalózt igen gyorsan lebontják a trehalázok. A trehalózt a növények törzsfejlődése során vélhetően azért váltotta le a szaharóz, mert utóbbit a mikroorganizmusok rosszabbul hasznosítják, mint a trehalózt, így szisztemikus inváziójuk energiaigényét nehezebben fedezik a növényben.

A **heterozidok (4. osztály 2. rend)** közös jellemzője az egy vagy több cukorkomponens, míg a molekula többi része bármely anyagtörzsbe tartozó növényi anyag lehet. Ez az összetevő adja a molekula speciális sajátságait: az antociánok esetében például a színt, a növényi hormonok cukor konjugátumainál az élettani hatásért felelős részt. Ezek az anyagok ezért a rendszer más, olyan szintjein is elhelyezhetők, ahol a nem cukor komponens képződéséhez vezető anyagcsere út az uralkodó.

A 7 monomernél nagyobb szaharidok, a **poliszaharidok (5. osztály)** csoportosítása monomer összetételükön alapul. Így a **homopolimer semleges szaharidokat** (5. osztály, **1. rend**) azonos építőelemek alkotják: a keményítő, a cellulóz, a glukánok egyaránt glükózból épülnek fel. Szerkezetük különbözőségét a monomerek térállása, és az azokat összetartó kötések adják. A monoszaharid cukrok kémhatása általában semleges, így a belőlük képzett

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

poliszaharidoké is. A nem semleges poliszaharidok esetében a monomerek többsége savas kémhatású atomcsoportokat (a lgtöbbször karboxil-csoportot) tartalmaz.

Az 1. rend legfontosabb képviselője a cellulóz, a Földön legnagyobb mennyiségben előforduló biopolimer. Ismétlődő egysége a cellobióz, β-1,4-glikozidos kötéssel összekapcsolt két glükózból áll. A rendkívül hosszú cellulóz láncok között gyenge másodlagos kötőerők ébrednek, ezek száma azonban óriási, és nagy, rugalmas ellenállást biztosítanak a faanyagnak. Amikor a növényi sejtfal tágulására, megnyúlásos növekedésre van szükség, a sejtfal fehérjéi bontják meg ezeket a kötőerőket. A cellulóz a természetben szinte sehol sem jelenik meg tiszta formában. Természetes állapota a lignocellulóz, a lignin és a cellulóz kovalens kötésekkel összetartott óriás polimere, melynek szerkezete nem írható le egységes formában, mivel a lignin monomerek és a cellulóz kapcsolódása közel randomszerű.

A **heteropolimer semleges szaharidok (2. rend.)** tipikus képviselője a xiloglukán, a növényi sejtfal hemicellulóz tartalmának legnagyobb részét adja. A xiloglukán β-1,4 kötésekkel összekapcsolt glükóz monomerekből felépülő láncához nagy számban, oldallánc helyzetben (1,6 kötéssel) xilóz kapcsolódik. A xilózhoz további galaktóz és fukóz monomerek csatlakoznak. A mannánok, glukomannánok, galaktomannánok, arabinogalaktánok a nevükben jelzett egyszerű cukrokból épülnek fel. A **homopolimer nem semleges szaharidok (3. rend)** közé tartozó kitin monomerje az N-acetil-glükózamin (GlNac), a homogalakturonánoké a GalUA. Mindkét polimer enyhén savas kémhatású. A természetes eredetű makromkolekulák közül az egyik legellenállóbb a kitin az ízeltlábúak és a gombák közös poliszaharidja.

A heteropolimer nem semleges szaharidok többnyire galakturonsav és egy más, egyszerű cukorból állnak, mint a ramnogalakturonánok, vagy az apiogalakturonánok. A kitinhez hasonló szerkezetű poliszaharid a kitozán, döntően glükózamin monomerekből, kisebb részben N-acetil-glükózamin monomerekből épül fel. Sebek, égési sérülések gyógyítására használja a modern gyógyászat. A glukán gyűjtőnév azokat a homopolimer szaharidokat foglalja össze, melyeket csak glükóz épít fel. A gyűrűvé zárult glükóz (glükopiranóz) C1-hez kapcsolódó OH -csoportjának (glükozidos-OH) térbeli helyzete szerint beszélünk α, vagy β glükózról, s az ezekből felépült láncot nevezzük α- vagy β-glukánnak. A cellulóz például β-1,4 glukán. Az α-glukánok tipikus képviselői a keményítő, a dextrán és a glikogén. Egyes gyógyhatású gombák β-glukánjai és glikoproteinjei (vagy glikoproteidjei) stimulálják az emberi immunrendszer sejtes elemeit. Az **5. rend, a glikoproteinek** sajátos átmeneti csoport. Monoszaharid egységekből, valamint aminosavakból felépülő makromolekulák, melyekben az összetevők részaránya tág határok között mozog. Bonyolítja a helyzetet, hogy a monoszaharid egységek kapcsolódhatnak a polipeptid lánc egyik végéhez, vagy a láncközi aminosavakhoz oldallánc helyzetben. Annak eldöntése, hogy inkább fehérjék, szaharid összetevőkkel, vagy poliszaharidok aminosav komponensekkel, gyakorlatilag lehetetlen. Besorolásuk a szaharidok törzse 5. osztályának 5. rendjébe lényegében önkényes. Biogenezisüket tekintve inkább utólag módosított fehérjéknek tekinthetők, akkor is, ha a szénhidrát rész méretében akár meg is haladhatja a fehérjét. Így a rendszer alapelvét figyelembe véve a csoport itt célszerűen üres halmaz, míg az azotoidok törzsének 3. rendjében a **2. családot (glikoproteinek)** alkotják. Indoklásra szorul, hogy miért csupán a glikoproteinek jelennek meg önálló csoportként, holott a fehérjék lipidekkel, nukleinsavakkal stb. is alkotnak különféle komplexeket. A glikoproteinek szintézise során a fehérje rész elkészülte után ehhez egyenként kapcsolódnak a szénhidrát monomerek, vagyis a molekula képződése nem tagolható két önálló szintézisre, majd összekapcsolódásra, mint pl. a fehérje-nukleinsav komplexek esetében.

A fehérjék beillesztése a biogenetikai rendszerbe a képződés elsődleges folyamatait kell, hogy alapul vegye. Nehéznek tűnik például az olyan fehérjék besorolása, mint a peroxidázok, melyek hem prosztetikus csoporttal együtt funkcionálnak. Valójában a több részegységből utólag összeálló komplexek tagjait külön-külön soroljuk be. Így a peroxidázok fehérje része az Azotoidok törzse 1. osztályának 3. rendjébe (fehérjék), míg a hem rész ugyanitt, a 2. rendbe (univerzális aminosav származékok) sorolható.

11.2. Fenoloidok

11.2. táblázat Fenoloidok

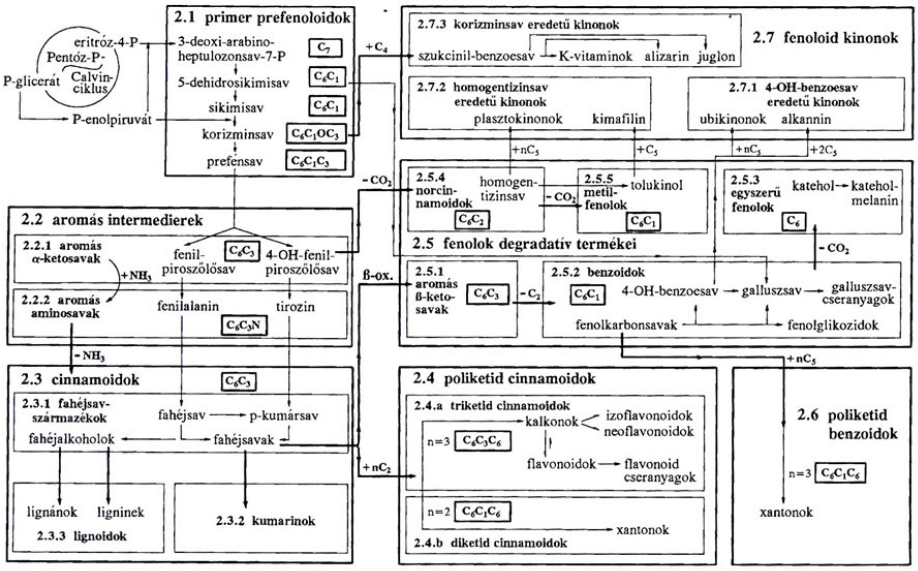
II. törzs: Fenoloidok	**Példák**
1. osztály: primer prefenoloidok	
	sikimisav, prefénsav
2. osztáy aromás intermedierek	

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

1. rend: aromás α-ketosavak	fenil-piroszőlősav
2. rend: aromás aminosavak	fenilalanin, tirozin
3. osztály: cinnamoidok	
1. rend: fahéjsav származékok	fahéjsav, kumársav
2. rend: kumarinok	umbelliferon (7-OH-kumarin)
3. rend: lignoidok családok: ligninek, lignánok	lignin monomerek: koniferil-szinápil- p-kumaril alkohol
4. osztály: poliketid cinnamoidok 1. alosztály: triketid cinnamoidok	
1. rend: kalkonok	tetrahidroxi kalkon, helilandin
2. rend: flavonoidok családok: flavonok, izoflavonoidok, neoflavonoidok	flavonol: kvercetin, miricetin izoflavonoid: arilokumarin neoflavonoid: dalbergin, nivetin
2. alosztály: diketid cinnamoidok	
	xantonok: mangiferin
5. osztály: fenoloidok degradatív átalakulási termékei	
1. rend: aromás β-ketosavak	benzoilecetsav
2. rend: benzoidok	galluszsav
3. rend: egyszerű fenolok	katehol
4. rend: norcinnamoidok	homogentizinsav
5. rend: metilfenolok	tolukinol
6. osztály: poliketid benzoidok	
	xantonok
7. osztály: fenoloid kinonok	
1. rend: 4-hidroxi-benzoésav kinonok	ubikinonok
2. rend: homogentizinsav kinonok	plasztokinonok
3. rend: korizminsav kinonok	naftokinol-karbonsav, K-vitamin

A törzs elnevezése arra utal, hogy az ide tartozó vegyületek elsődlegesen fenolos jellegűek, vagyis egy aromás gyűrűhöz erősen savas karakterű (fenolos) hidroxil csoport kapcsolódik. A törzset alkotó molekulák szintézisének kezdete (sikimisav út) mikroorganizmusokban és növényekben egyaránt univerzális, s ezen az úton képződik az aromás származékok óriási száma. A sikimisav-út a pentózfoszfát ciklus egyik intermedierjének, az eritróz4P-nak és a glikolízisből származó foszfoenolpiruvátnak 7 C-atomos intermedierré egyesülésével indul. Ebből 5 -dehidrosikimisav képződik, majd a névadó sikimisav, egy ciklohexén-karbonsav (C6C1). Foszfátésztere foszfoenolpiruváttal (C3) reagál, majd egy kettős kötés kialakulását követően korizminsav (C6C1-O-C3) és prefénsav (C6C1-C3) jön létre. Ezek együtt alkotják a primer prefenoloidok osztályát. A prefénsavból indul az **aromás intermedierek (2. osztály)** szintézise, ezekből a **cinnamoidok (3. osztály)**, a cinnamoid fahéjsavból pedig a **poliketid cinnamoidok (4. osztály)** képződése.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



11.3. ábra A fenoloidok bioszintézise és rendszere. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

Az eredetileg a japán sikimi virágból izolált sikimisav fontos gyógyszer alapanyag. Napjainkban a csillagánizsból (*Illicium verum*) vonják ki nagy mennyiségben, és használják a Tamiflu hatóanyaga, az oszteltamivir előállítására. Ez a ciklohexán gyűrűt tartalmazó vegyület gátolja az influenza A és B vírus szaporodását, szisztemikus terjedését. Az aromás intermedierek első csoportja a prefénsavból dekarboxilezéssel származtatható **alfa-ketosavakat (1. rend)** foglalja magába. A fenil-piroszőlősavból fenilalanin, míg a 4-hidroxi-fenilpiroszőlősavból tirozin képződik transzaminálással. A két aromás aminosav már a **2. anyagrend (aromás aminosavak)** tagja. A harmadik proteinogén aromás aminosav a triptofán nem a fenoloid anyagcsereutakon képződik, így az azotoidok törzsében foglal helyet.

A fenilalanin a PAL (phenilalanin-ammonia-liáz) enzim közreműködésével oxidatív dezaminálódás után fahéjsavvá alakul. Analóg módon a tirozinból a TAL révén para-kumársav jön létre. Mindkét C6C3 vegyület váza fenilpropán, így a 3. osztály, a cinnamoidok, azon belül a **fahéjsav származékok (1. rend)** tagjai. A **2. rend**be tartozó **kumarinok** a fahéjsav 3C atomot tartalmazó oldalláncának gyűrűvé záródásával képződnek. A kialakult új gyűrű 4. atomja O. A képződés valószínűleg CoA-észterekenkeresztül valósul meg. Változatos szerkezetű kumarinok jönnek létre a gyűrűk telítődése, valamint különböző hosszúságú oldalláncok (C5, C10, C15) kapcsolódása révén. A cinnamoidok **3. anyagrend**jét a **lignoidok** alkotják, melyek fahéjalkoholokból származtathatók. A fahéjalkoholok CoA-észtereken keresztül jönnek létre fahéjsavakból. Oldalláncuk telítődése után kávésav, ferulasav képződésén át több hasonló szerkezetű lignin-monomer jön létre. Ezek összekapcsolódása, kovalens kötések kialakulása a cellulóz és a monomerek között – eddig ismeretlen mechanizmussal – eredményezi a lignin, ill. lignocellulóz kialakulását.

A lignin a növényi sejtfalat alkotó cellulóz állandó partnere, a helyes elnevezés a lignocellulóz. A lignin monomerjei a fahéjsavból származtathatók: a legkisebb részarányú monomer a p-kumaril alkohol nem tartalmaz O-CH_3 csoportot, a koniferil alkohol egyet, míg a szinapilalkohol kettőt (11.5. ábra). A bioszintézisükhöz szükséges teljes enzimkészlet mind a nyitvatermők, mind a zárvatermők körében teljes, a lignin összetétele mégis némileg eltérő: a nyitvatermők körében a koniferil alkohol részaránya valamivel magasabb. A ligninbontás képessége azonban csak a mikroorganizmusok privilégiuma. Rendkívül összetett enzimrendszer bontja a lignocellulózt: a ligninbontók (lakkázok, lignoperoxidázok, Mn-peroxidázok, verzatil peroxidáz) mellett a „kristályos” cellulózhoz kapcsolódó lignin megbontásához H_2O_2-t termelő glikolsav oxidáz is szükséges.

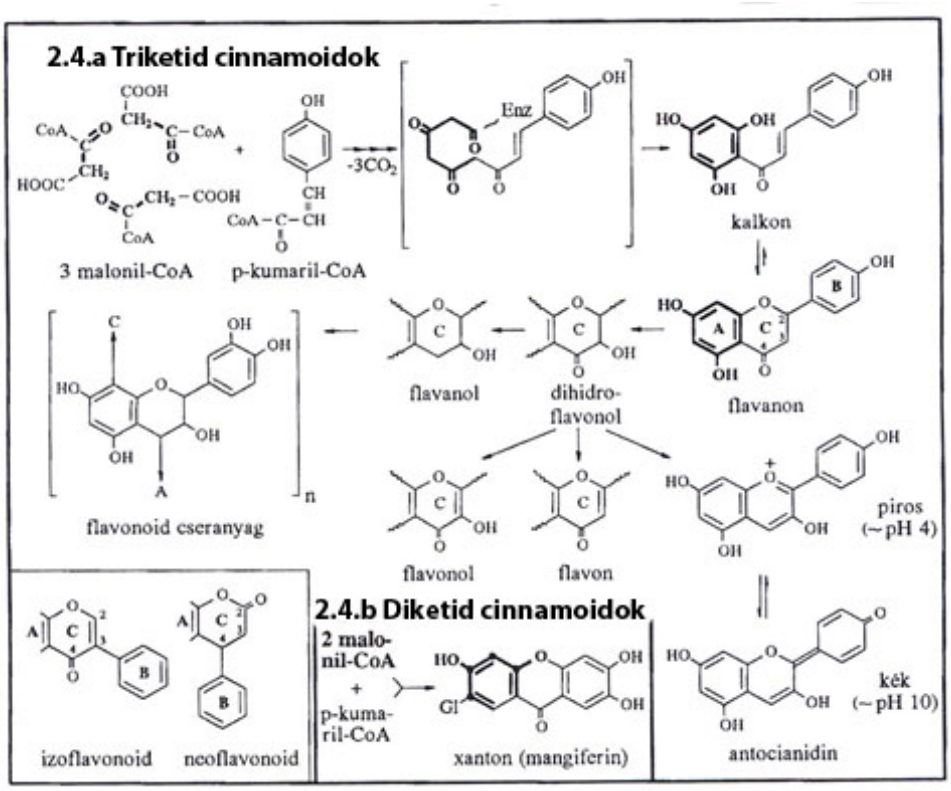
A lignoidok két családra, a fenti ligninekre és a lignánokra tagolhatók. Ez utóbbiak kevésbé elterjedt anyagcsoport. Legtöbbször két fahéjalkohol egyesülése útján jönnek létre úgy, hogy a C3 oldalláncokból új gyűrű alakul ki. Előfordulnak azonban hosszabb, oligomer lignánok is. A lignánok képződésében egy lakkáz-szerű fehérje játszik kulcsszerepet. A lakkázok az egyetlen eddig ismert fehérje csoport, mely a növényekben előfordul, és képes legalább részlegesen bontani a lignint.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A fenoloidok első három osztályának közös jellemzője a C6C3 szerkezet. A következő 3 osztályban a C3 részlet megváltozik, hosszabbodhat, rövidülhet, sőt rövidülést követően ismét hosszabbodhat. Legnépesebb csoportjuk a **poliketid cinnamoidok (4. osztály)**. Fahéjsav CoA-észterekből, és malonil-CoA-egységekből képződnek. A kapcsolódó malonil-CoA egységek száma lehet 1-5, de a legjelentősebb csoport, a **triketid cinnamoidok (1. alosztály)** esetében 3. Az így létrejövő intermedierből egy ciklizációs lépésben keletkeznek a **kalkonok (1. rend)**, majd újabb gyűrűzáródást követően az O-heteroatomot is tartalmazó három gyűrűs flavanonok, melyek már a **2. rend (flavonoidok)** tagjai. A poliketid eredetű A-gyűrűhöz két közös C-atommal illeszkedik az O-heteroatomot tartalmazó, nem aromás C-gyűrű, s ehhez kapcsolódik a 2. számú C-atomon keresztül egy újabb, aromás gyűrű (B). A **flavonok** családjától ennek a gyűrűnek a kapcsolódási helye különbözteti meg az **izoflavonok** családját, ahol a kapcsolat a 3. számú C-atomon keresztül jön létre, míg a **neoflavonoidok** családjánál a C-gyűrű 4. számú C-atomján keresztül kapcsolódik a B-gyűrű.

A flavonok családjának szerkezeti változatai (nemzetségei) a C-gyűrű átalakulásaiból származtathatók: OH-csoport kialakulásával *dihidroflavonolok*, abból *flavonok, flavonolok* képződhetnek (11.4. ábra). A dihidro-flavonolok karbonil csoportjának leszakadásával indul az *antocianidinek* kialakulása. Ezek a savas pH-n piros, lúgos pH-n kék színű indikátor vegyületek kisebb részben szabadon, nagyrészt észterek, vagy glikozidok formájában színezik elsősorban a sziromleveleket. A növényi citoplazmában uralkodó pH tipikusan 7-7.5, gyakorlatilag soha nem éri el az antociánok kék színének kialakulásához szükséges 10 körüli értéket. Az antociánok kék színét fémionokkal alkotott komplexeik adják, s a szín kialakulásához hozzájárulnak a molekulához kapcsolódó egyéb vegyületek (különböző monoszaharidok, elsősorban glükóz, poliszaharidok) is.

A flavonoid cseranyagok is a C-gyűrű szerkezeti variánsaiból, flavanolokból, flavandiolokból jönnek létre polimerizálódás útján. A **diketid cinnamoidok (2. alosztály)** száma csekély, a három kondenzált gyűrűből álló xantonok egyik képviselője, a mangiferin tartozik például ide. A xantonok többsége a fenoloidok lebontása (C6C3 – C6C1) utáni oldallánc hosszabbításával jön létre. A diketid cinnamoid mangiferin azonban a poliketid cinnamoidokkal analóg módon képződik: a p-kumarol-CoA-hoz 2 malonil-CoA kapcsolódik.

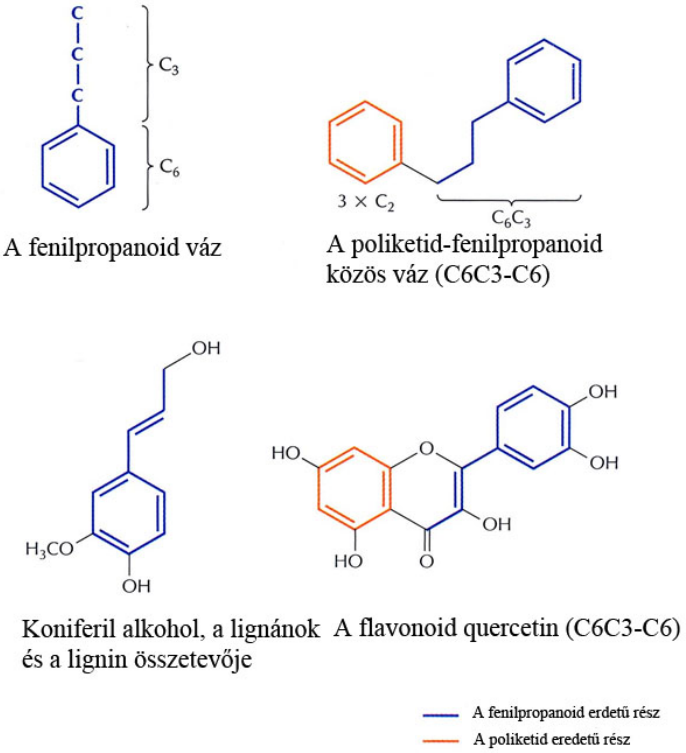


11.4. ábra A triketid- és diketid cinnamoidok bioszintézise, csoportjai

A fenoloidok törzs **5. anyagosztály**ának tagjai a C6C3 szerkezetű **fenoloidok degradatív átalakulásának termékei**, oldalláncuk különböző fokú lebontásából származtathatók. **1. rend**jük, az **aromás ketosavak** fahéjsav-CoA származékok β-oxidációjával és a CoA részlet lehasadásával jönnek létre. Jelentős mennyiségben nem halmozódnak

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

fel, CoA-észtereikből jönnek létre a **benzoidok (2. rend)** újabb β-oxidációval. A kapott C6C1 fenoloidok oldallánc helyzetű C-atomjai eltérő oxidációs fokot képviselnek (aldehid, alkohol, karbonsav). Rendkívül elterjedt anyagcsoport, gyakran glikozidos formában akkumulálódnak (fenil-glikozidok). Két fenolos karbonsavból, a galluszsavból és a 4-hidroxi-benzoésavból indul a rend legfontosabb anyagai, a cseranyagok és a kinonok szintézise. Ezek a cseranyagok észterkötéssel összekapcsolt galluszsavakból és glükózból épülnek fel, így vízben viszonylag könnyen hidrolizálnak. A **3. rend**et alkotó **egyszerű fenolok** C3 lánca már egészében hiányzik, az aromás gyűrűhöz gyakran hidroxil csoportok kapcsolódnak. Típikus képviselőjük a katehol, melynek számtalan példányából oxidatív kondenzációval jönnek létre a katehol melaninok.



11.5. ábra A fenilpropanoid- és poliketid út találkozása.

A **norcinnamoidok (4. rend)** esetében is degradatív termékről van szó: a C6C3 vegyület dekarboxilezéssel C6C2 származékká alakul. A kiindulási vegyület itt nem aromás β-ketosav, hanem aromás α-ketosav, például fenilpiroszőlősav. Dekarboxilezéssel keletkezik ebből a fenilecetsav, mely auxin hatású molekula. A rend legfontosabb vegyülete mégis a homogentizinsav, mely további anyag csoportok kiinduló pontja. Így például dekarboxilezéssel származtatható belőle a tolukinol, a **metilfenolok (5. rend)** egyik képviselője. Homogentizinsavból és tolukinolból képződik a fenoloid kinonok egy része is.

A fenoloidok különleges csoportja a **poliketid benzoidok (6. osztály)**, melyek képződése poliketid jellegű: 4-OH-benzoilCoA és 3 malonilCoA összekapcsolódásában valósul meg. Itt tehát a C6C1 méretig lebontott fenilkarbonsav oldalláncának utólagos meghosszabbításával állunk szemben.

A törzs utolsó osztálya a **fenoloid kinonok (7. osztály)**. A rendeket prekurzoraik alapján nevezzük meg: **4-OH-benzoésav kinonok (1. rend)**, melyek legismertebb képviselői az ubikinonok. Szerkezetükben a C5 egységekből felépülő oldallánc a terpenoid úton képződő farnezil-PP-ból származik, vagyis itt a terpenoid- és fenoloid út találkozását látjuk. Ugyanez a kettős eredet jellemzi a naftokinon-vázú alkannint. A **homogentizinsav kinonok (2. rend)** esetében a plasztokinonok képviselik az egy gyűrűből, és terpenoid eredetű oldalláncból létrejövő kinont, míg a naftokinon szerkezet a kimafilinben jelenik meg. A **korizminsav kinonok (3. rend)** képezik az osztály utolsó csoportját. Nevük is egyértelműen a tisztán fenoloid-, pontosabban primer prefenoloid eredetre utal. A kiinduló korizminsavról egy piroszőlősav hasad le, ugyanakkor a korizminsav egyik prekurzora a sikimisav kapcsolódik a molekulához. A sikimisav (C6C1) jellemzően a C1 részlet lehasadása után lép kondenzációs

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

reakciókba, itt azonban a teljes C6C1 egység vesz részt a kinon kialakításában. Ezt követően egy tiamin-difoszfát-borostyánkősav-félaldehid kapcsolódásával 2-szukcinil-benzoésav, majd CoA közreműködésével naftokinol-2-karbonsav jön létre. Ez a vegyület a K_1-vitamin prekurzora: dekarboxilezés, majd fitil oldallánc és metil-csoport beépülésével jön létre a növényi táplálékkal felvehető fillokinon. Az ember K-vitamin szükségletének jelentős része a bélrendszerünkben élő baktériumoktól származik. A K_2-vitaminnak is nevezett kinon (menakinon) csak az oldallánc szerkezetében tér el a K_1-vitamintól.

11.3. Poliketidek

11.3. táblázat Poliketidek

III. törzs Poliketidek **a. altörzs: zsírsavak és származékaik**	**Példák**
1. osztály: univerzális zsírsavak	palmitinsav, sztearinsav
2. osztály: speciális zsírsavak	12-hidroxi-sztearinsav
3. osztály: zsírsav származékok	capril alkohol (C8), sztearil alkohol (C18)
4. osztály: gliceridek	
1. rend: mono- és digliceridintermedierek	glicerol-3-P, foszfatidsav
2. rend: trigliceridek	triacil-glicerolok
3. rend: glicerofoszfolipidek	foszfatidil-etanolamin, foszfatidil-kolin
4. rend: gliceroglikolipidek	galaktozil-digliceridek, szulfodigliceridek
5. osztály: szfingolipidek	
1. rend: szfingofoszfolipidek	szfingozil-foszforil-kolin
2. rend: szfingoglikolipidek	szfingozil-glikozid
6. osztály: diol lipidek	
	1,3 propán-diol palmitinsav észter
7. osztály: neutrális lipid polimerek	
	szuberin, kutin
b. altörzs: speciális poliketidek	
1. osztály: acetogén poliketidek	
1. rend: tetraketidek	γ-konicein, resveratrol, uzminsav
2. rend: pentaketidek	2-malonil resveratrol
3. rend: hexaketidek	plumbagin
2. osztály: zsírsav poliketid származékok	
	metilaszpidinol
3. osztály: bekapcsolódás más anyagcsereutakba	

A törzs elnevezése az ide tartozó vegyületek alapszabására, β-keto jellegére utal: a molekula CO-CH_2 egységek lineáris polimere, ahol minden második (β-helyzetű) C-atom egy keto-csoport része. A speciális poliketidek altörzsét alkotó anyagoknál ez a jelleg – a minden második C-atomhoz kapcsolódó oxo (keto)-csoport – felismerhető, akkor is, ha a lánc gyakran gyűrűvé zárul. A képződés szempontjából tipikus poliketidek a zsírsavak és származékaik szerkezetében ezt már nem látjuk viszont, mivel az egységek összekapcsolódásával együtt redukció is történik, és a kész lánc már -CH_2-CH_2 -egységekből áll. Ez a szembetűnő szerkezeti és képződési különbség adja az alapot a törzs 2 altörzsre osztásához.

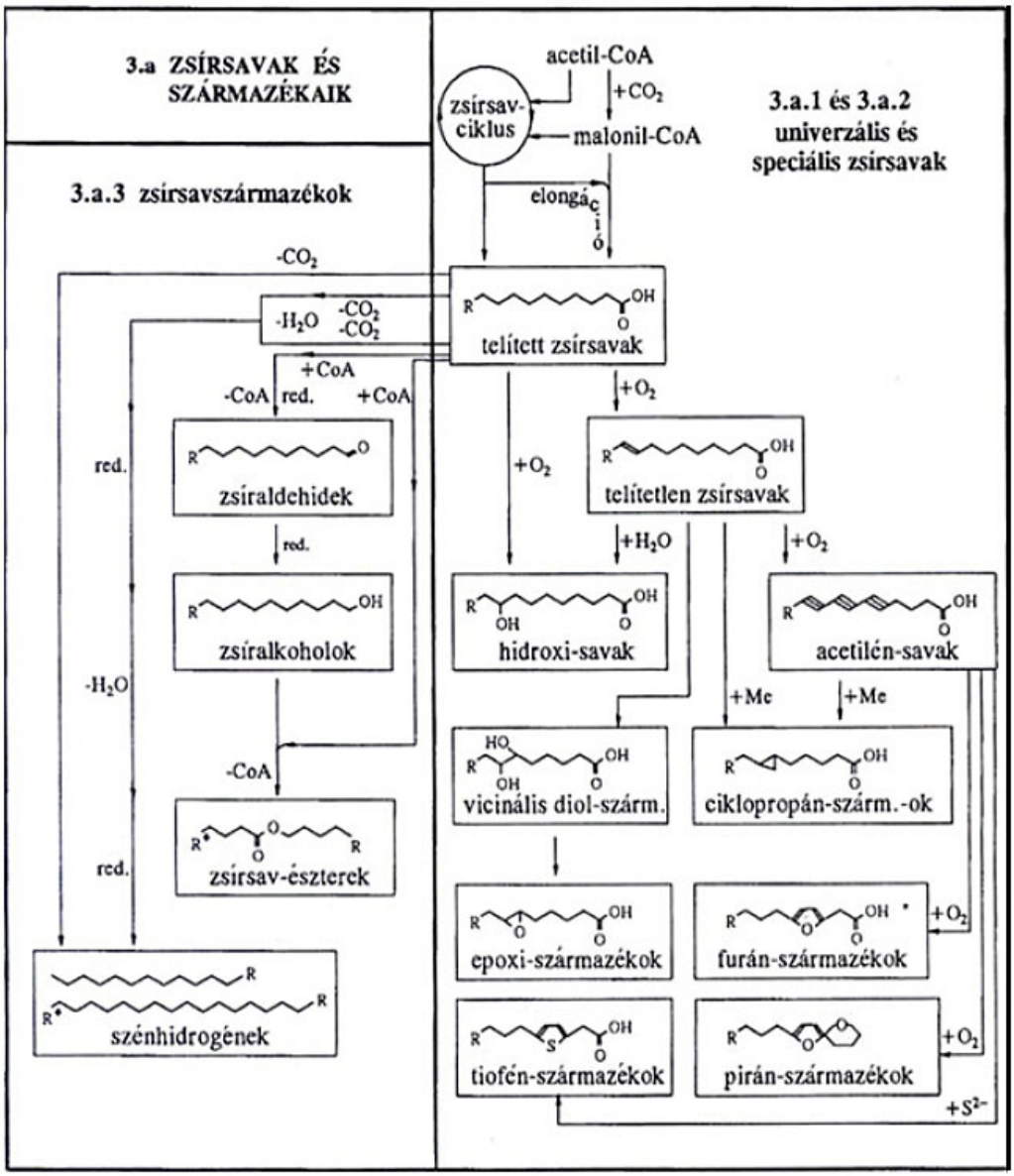
A poliketidek képződése sok szempontból mégis egységes: egy primerhez (indító darab) aktív monomerek kapcsolódnak egymás után. Az indító darab legtöbbször acetilCoA, a monomer malonilCoA.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A kezdődarab használata tulajdonképpen minden biológiai eredetű polimer, makromolekula szintézisében tetten érhető. A DNS-szintézis esetében ez a lusta fonalon egészen nyilvánvaló (RNS). A fehérjék esetében egy olyan tRNS-hez kötött aminosav képezi a primert, ami a végleges polipeptidben már nincs jelen (metionin ill. formilmetionin). A poliszaharidok szintézisében elsősorban az UDPG, de más nukleotidfoszfát-glikozidja is szerepelhet primerként.

A poliketid szintézis indítódarabja több aktív molekula lehet, az acetilCoA mellett például propionilCoA. Ez utóbbi esetben a végtermék páratlan szénatomszámú lesz.

A monomerek szállítását külön fehérjék, az acilcarrier proteinek (ACP) végzik. Ez a fehérje egyben a zsírsav szintetáz komplex központi eleme, a növényekben további hat fehérje kapcsolódik hozzá. Az élesztőkben ezt a hat funkciót 2 polipeptid látja el, gerincesekben már csak egy. A láncot ez a komplex építi fel, ciklikusan ismételve a malonil csoport (C3) kapcsolódását az ACP acetilCoA csoportjához, majd a redukciót és dekarboxilezést. Így a láncba már 2 C-atomos egységek épülnek be. A folyamat során a zsírsav mindvégig a komplexhez kötődik, köztes termékek nincsenek.



11.6. ábra A poliketid zsírsavak és származékaik képződése.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

A zsírsavak és származékaik altörzsének legfontosabb vegyületei az **1. osztályba tartozó univerzális zsírsavak**. A növényekben a zsírsavak ciklikus szintézisének végterméke a 16 C atomos palmitinsav, az ennél hosszabb láncok már utólag, más enzimek közreműködésével jönnek létre (lánchosszabbítás). Ilyen a 18 C atomos sztearinsav, s a belőle képződő telítetlen zsírsavak. Az olajsav egy telítetlen kötést tartalmaz (9. C-atom), a linolsav kettőt (9. és 12. C-atom), a linolénsav hármat (9., 12., és 15. C-atom).

A linolénsav a növényi membránok foszfolipidjeiből rovarrágás során is felszabadulhat a foszfolipázok működésének eredményeképp. Ez a telítetlen zsírsav a forrása az ilyen biotikus stressz hatásra elinduló jazmonát stressz hormon szintézisének. Az oktadekanoid útnak is nevezett folyamat analóg az állati rendszerekben a jazmonátokhoz hasonló élettani szerepű prosztaglandinok, leukotriének szintézisével. Ez utóbbi kiindulási vegyülete ugyancsak egy „minor" zsírsav, az arachidonsav.

A **speciális zsírsavak (2. osztály)** a telítetlen kötések különböző átalakulásaival származtathatók (hidroxisavak, acetilén zsírsavak, ciklopropán származékok stb.). A **zsírsav származékok (3. osztály)** az univerzális zsírsavakból úgy keletkeznek, hogy a láncon belüli módosulásokhoz itt a láncvégi karboxil - csoport átalakulása is társul, s jönnek létre CoA észtereikből a zsíraldehidek és zsíralkoholok. A létrejött zsíralkoholokból és zsírsavakból zsírsavészterek képződhetnek. Zsírsavakból képződhetnek szénhidrogének is a láncvégi karboxil-csoport lehasadásával (dekarboxilezés), vagy két zsírsav molekula összekapcsolódását követően keton és alkohol képződésen át.

A **4. osztály**ba tartozó **gliceridek** a glicerol három alkoholos hidroxil csoportjának különböző mértékű észteresítéséből származnak. Kiindulási vegyületük a glicerol-3-P a glikolízis egyik intermedierje. A C1, majd C2 helyzetű hidroxil csoportok észteresítése eredményezi az 1,2-diacil-glicerol-3-P-ot (foszfatidsav), majd defoszforilezéssel keletkezik a diacil-glicerol. Ezek együtt alkotják a **mono-és diglicerid intermediereket (1. rend)**. A diacil-glicerol és 3-foszfátja egyben a további glicerid szintézis kiinduló vegyületei. Ilyenek például a **trigliceridek (2. rend)**, melyekben a diacil-glicerol 3. hidroxil csoportját is zsírsav észteresíti. Természetesen a zsírsavak teljes méret- és telítettségi választéka vehet részt a glicerol észteresítésében, így a trigliceridek óriási változatosságát generálva.

A gliceridek **3. rend**jét a **glicerofoszfolipidek** alkotják, melyek képződési útja aktiválással kezdődik. A foszfatidsavval ekkor CTP reagál, majd a létrejött CDP-diacil-glicerolhoz például szerin kapcsolódhat (foszfatidil-szerin), vagy inozitol (foszfatidil-inozitol).

A **glicero-glikolipidek (4. rend)** képződése során a diacil-glicerolhoz UDP-monoszaharidok (galaktóz, szulfokinovóz stb.) kapcsolódnak, létrehozva például a galaktozil-diglicerideket. A **szfingolipidek** osztályában (**5. osztály**) a palmitinsavból és szerinből létrejött fitoszfingozin alkotja a molekulák alapvázát. A szerinből származó amino-csoporthoz ezután zsírsav köt, amid kötéssel a fitoszfingozin lánc végén, 1-helyzetben lévő OH-csoporthoz pedig glikozidos kötéssel glükóz kapcsolódik (**szfingoglikolipidek, 2. rend**). Ha ugyanezt a hidroxil csoportot előbb foszforsav észteresíti, majd ahhoz oligoszaharid (pl. Gal-Man-Ara) kapcsolódik, akkor a **szfingofoszfolipidek (1. rend)** képződése zajlott le.

A **6. osztály**ba tartozó **diol lipidek** jellemzője, hogy rövid, 2-5 C-atomos diolokat (pl. bután-diol) zsírsavak észteresítenek. Egyes primitív algákban fordulnak elő. A **7. osztály**ba (**neutrális lipid polimerek**) zsírsavak közepes méretű polimerje a kutin tartozik, a növényi bőrszövetet borító kutikula fő összetevője. Szintén neutrális lipid polimer még a szuberin (para), a polialifás és poliaromás összetevőkből kialakuló viaszos jellegű, vízzáró bevonat, mely például a növényi gyökérzetet borítja.

A poliketidek b altörzsét, a speciális poliketideket alkotó vegyületekben a β-keto jelleg felismerhető (-CO-CH_2-), mivel a malonil-CoA egységek kondenzálódását nem követi redukciós lépés. Az ide tartozó molekulák gyakran gyűrűs szerkezetűek. Képződésük részleteit sok esetben egyelőre csak a gombákban ismerjük. Így a *Penicillium* fajokban a zsírsav szintézisben szereplő multienzim komplex egy acetil-CoA primerhez 3 malonil-CoA-t kapcsol. Az aromás gyűrű a komplexen kialakul, és a már kész 6-Me-szalicilát szabadul fel.

Az altörzs rendkívül változatos vegyület csoport, mivel a primer és a lánchosszabbító egység egyaránt jóval többféle lehet, mint a zsírsavak és származékaik esetében. Fokozza a változatosságot a gyűrűvé záródás számtalan lehetősége, és a másodlagos szerkezeti változások (metilezés, alkilálás, halogénezés stb.) nagy száma.

A tipikus primer acetil-CoA, a kapcsolódó „monomerek" a malonil-CoA molekulák, melyek a beépülést követően ugyancsak acetil-csoportként jelennek meg, innen az 1**. osztály** neve: **acetogén poliketidek**. A rendek elnevezése

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

is (tetra-, penta-, hexa-ketidek) a kapcsolódó acilcsoportok számának felel meg. Ezek a speciális poliketidek szerkezetükre nézve gyakran egyeznek más anyagtörzsekben szereplő származékokkal: a plumbagin hexaketid például naftokinon, a naftokinonok pedig döntően a fenoloid úton képződnek. A γ-konicein redukált piridinszármazék, s ezek egyébként lizinből képződő alkaloidok. Vagyis olyan speciális anyagokról van szó, melyek nagyrészt más anyagcsere utakon képződnek, de létezik ez az alternatív poliketid szintézis útjuk is.

A **2. osztályba (zsírsav-poliketid származékok)** tartozó anyagok primerje lehet acetil-CoA, de főleg butiril-CoA, izobutiril-CoA, vajsav-CoA, izovajsav-CoA, izovaleriánsav-CoA. A páfrányokban előforduló metilaszpidinol például butirilCoA+3 malonil-CoA+2 Me kondenzációjában keletkezik. Ezek a primerek (pl. izobutiril-CoA) a zsírsav szintézis speciális változataiban (elágazó lánckezdetű speciális zsírsavak) is szerepelnek, vagyis ez az anyagcsoport a két altörzs között képez hidat.

Ugyancsak különleges csoport az altörzs **3. osztály**a: **bekapcsolódás más anyagcsere utakba**. Az ide tartozó poliketidek primerje más anyagtörzsekben szereplő molekula. A flavonoidok indítódarabja például fahéjsav CoA, s ehhez kapcsolódik 3 malonilCoA egység. A flavonoid szintézis „mechanizmusa" tehát poliketid jellegű, de kiindulási vegyülete a fenoloidok anyagtörzsébe tartozó fahéjsav, így ezek a vegyületek poliketid cinnamoidok (cinnamoid=fahéjsav jellegű) néven a fenoloidok közé kerültek. Ugyanezen megfontolásból soroljuk az azotoidok közé az antranilil-CoA primerről szintetizálódó antranilsav eredetű akridin alkaloidokat. Így ez az osztály névleges, az ide sorolható vegyületek mindegyike más anyagtörzsekben szerepel.

A speciális poliketid anyagcsere út termékei nagy számban és változatosságban a gombákban (főleg tömlősgombákban) és egyes baktériumokban (pl. *Actinomycetes*) jelennek meg, és adják egyre növekvő számban a gyógyászatban alkalmazott antibiotikumokat.

11.4. Terpenoidok

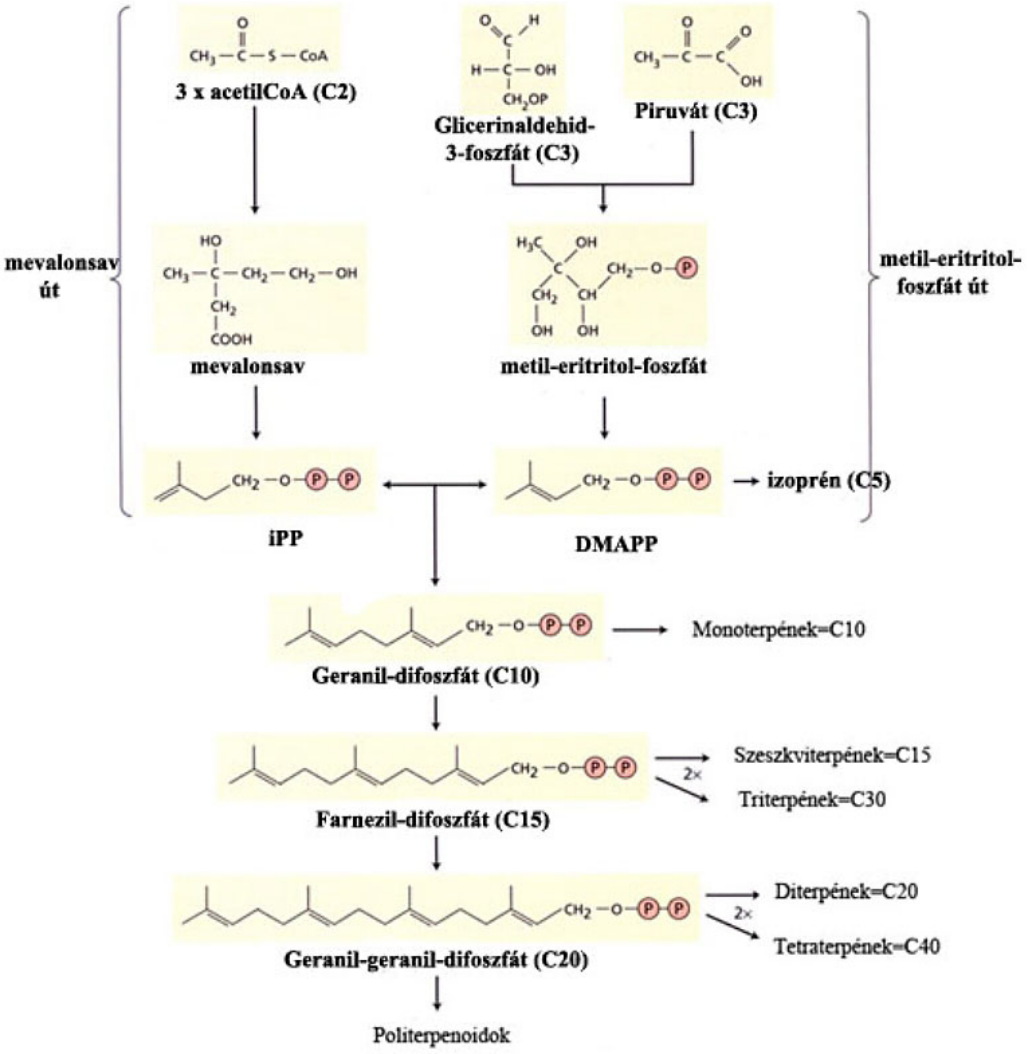
11.4. táblázat Terpenoidok

III. törzs: terpenoidok	**Példák**
1. osztály: intermedierek és hemiterpenoidok	
	izopentenil-PP, demitil-allil-PP
2. osztály: monoterpenoidok	
1. rend: szabályos monoterpenoidok	kámfor, ocimén, mentol
2. rend: ciklopentanoid monoterpenoidok	loganin, szekologanin
3. rend: szabálytalan monoterpenoidok	krizantémsav
3. osztály: szeszkviterpenoidok	
	abszcizinsav
4. osztály: triterpenoidok	
1. rend: primer-és intermedier triterpenoidok	lanoszterol, cikloartenol
2. rend: triterpének	oleanolsav
3. rend: szterolok	koleszterol, β-szitoszterol
4. rend: szteroid szaponinok	dioszcin
5. rend: szteroid eredetű N-vegyületek	szolanidin-glikozidok
6. rend: oxidált szteroid-származékok	brasszinolid
7. rend: pregnán-származékok	kardenolidok, bufadienolidok
5. osztály: diterpenoidok	
	gibberellinek, fitol
6. osztály: tetraterpenoidok	
1. rend: karotinok	β-karotin

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

2. rend: xantofillok	zeaxantin
3. rend: apokarotinoidok	krocetin
4. rend: prenil-tetraterpenoidok	dekaprenoxantin
7. osztály: szeszterterpenoidok	
	keilantatriol
8. osztály: oligoterpenoidok	
	doliholok, betulaprenolok
9. osztály: politerpenoidok	
	kaucsuk

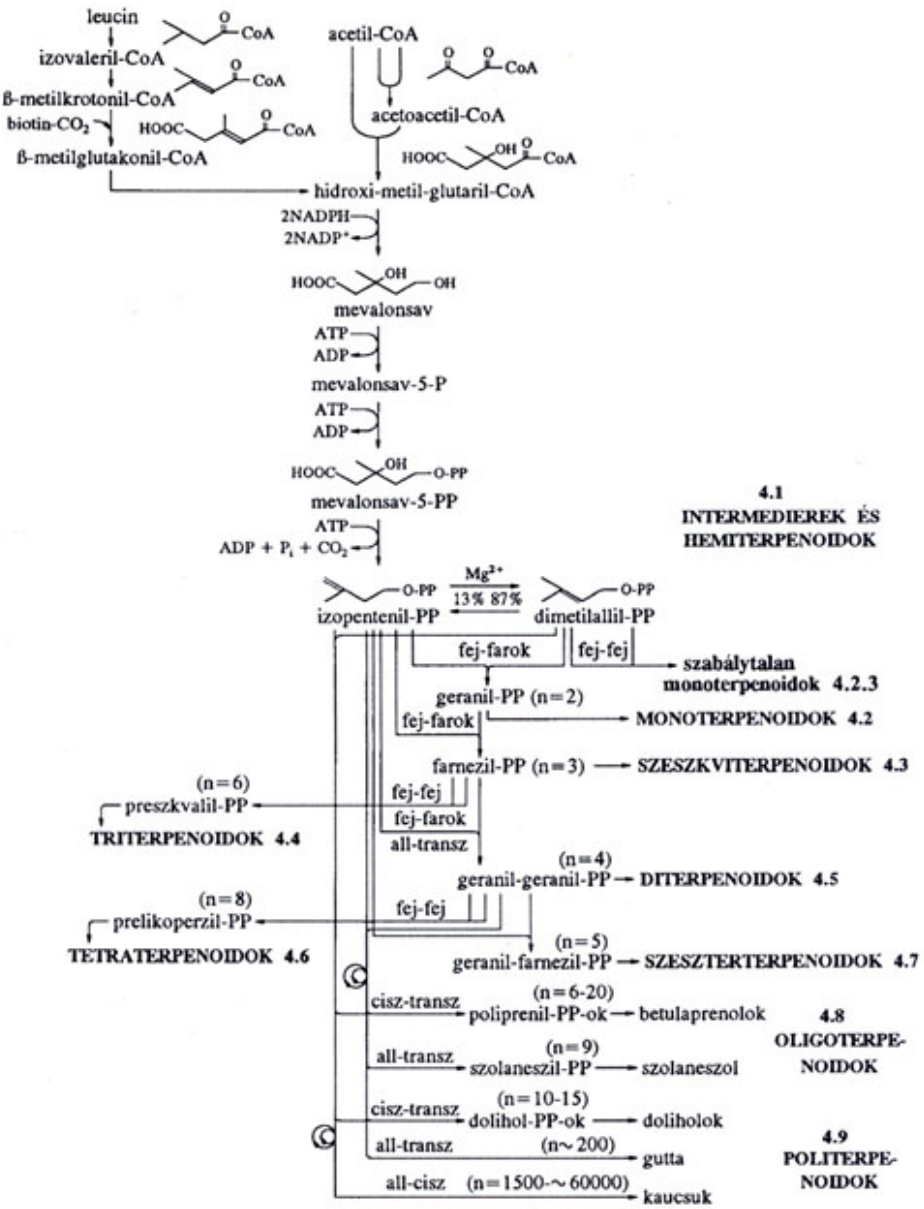
A terpenoidok ugyanazon a bioszintézis úton képződnek, mint a terpének, az illóolajok komponensei, innen az elnevezés. Szerkezetükben jól felismerhető az ismétlődő C5 egység, de ez nem izoprénből, szá A terpenoidok ugyanazon a bioszintézis úton képződnek, mint a terpének, az illóolajok komponensei, innen az elnevezés. Szerkezetükben rmazik, hanem izopentenil-difoszfátból (iPP) és dimetil-allil-difoszfátból (DMAPP). Képződése 2 acetil-CoA lineáris kapcsolódásával indul. A létrejött acetoacetilCoA-hoz elágazódó módon újabb acetil-CoA egység kapcsolódik. A termék (β-hidroxi- β-metil-glutaril-CoA) redukcióval mevalonsavvá alakul. Ebből 3 lépésben, foszforilezéssel és dekarboxilálással jön létre a terpenoidok monomerje az iPP, valamint sztereoizomerje a DMAPP.



11.7. ábra A terpenoidok és monomerjeik bioszintézise

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Mindkét vegyület egyik végén – a difoszfát csoport szomszédságában – aktív, összekapcsolódásra képes CH_2-csoport van („fej”). A DMAPP másik vége („farok”) kevésbé aktív metil-csoporttal zárul. Az iPP farok része azonban kettős kötést tartalmaz, tehát aktív, további kapcsolódásra képes. Vagyis az iPP lánchosszabbításra alkalmas monomer, míg a DMAPP lánclezáró. Szabályos, fej-farok kapcsolódás esetén a DMAPP is alkalmas lánchosszabbításra, de például fej-fej kapcsolódást követően csak iPP. Ezért a C5 méretnél nagyobb terpenoidok képződésének első lépésekor fej-farok összekapcsolódásból keletkező geranilPP csak egyik végén, a fej részen aktív. A további potenciális növekedéshez ismét egy mindkét végén aktív intermedierrel (iPP) kell összekapcsolódnia. A termék most már C15 vegyület, a farnezilPP. Analóg módón képződik a C20 geranil-geranil difoszfát, majd a további terpenoid osztályok. Nevezéktanuk egy régi, formális osztályozásból származik, mely a C10 egységet tekintette monomernek, így a C5=hemi (fél) terpenoid, a C10= monoterpenoid, a C15=szeszkvi (másfél), a C20= diterpenoid.

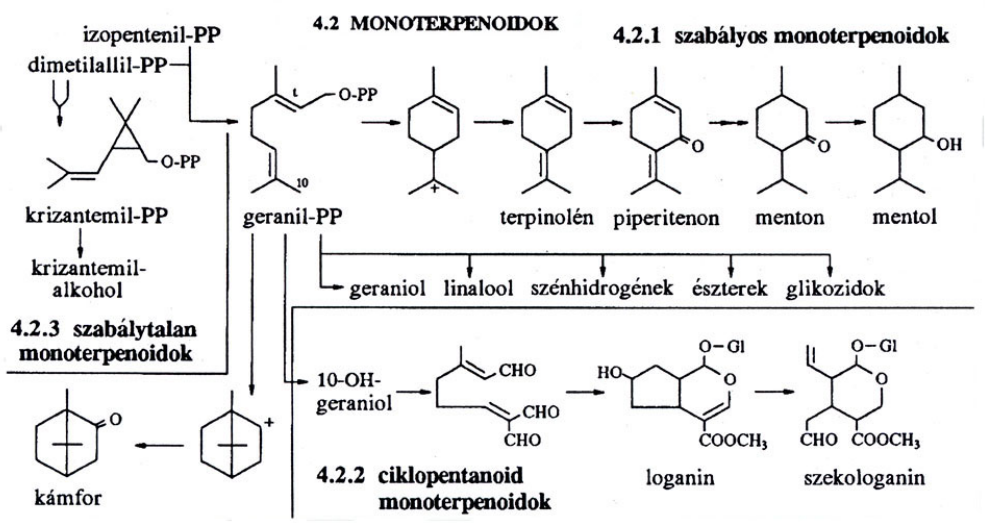


11.8. ábra A terpenoidok bioszintézise

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

Az **intermedierek és hemiterpenoidok (1. osztály)** közé tehát a C5 vegyületek (mevalonsav, és glikozidjai, az izopentenilPP, a dimetil-allilPP) tartoznak, köztük a növényekben sokáig hiába keresett izoprén. A tölgy, a nyár és a nád levelekből újabban kimutatott izoprén termelődése magasabb hőmérsékleten, ózonterhelés során jelentős, és hőtűrésüken felül javítja a növények ellenállását is a káros oxigénformákkal szemben. Eddig nem igazolt elmélet szerint mindkét hatás a membránokkal való jótékony kölcsönhatásnak tulajdonítható. Az izoprén képződésének újabban leírt útján piroszőlősav (C3) és glicerinaldehid3P (C3) kondenzál, keletkezik 1-dezoxi-D-xilulóz-5-foszfát (C5) egy CO_2 kilépése közben. Hat további lépésben képződik az illékony izoprén. A polimerizálódott iPP, a természetes kaucsuk, a kaucsukfa (*Hevea brasiliensis*) tejnedvéből (latex) készül. Jelentős mennyiséget állítanak még elő a guayule (*Parthenium argentatum*) nevű félcserje tejnedvéből, mely nem tartalmazza a kaucsuk allergén fehérjéit. A kaucsuk kb. 98,5% cisz-1,4-poliizoprént és mintegy 1.5% cisz-3,4-poliizoprént tartalmaz, közepes molekula tömege 1.3 millió Dalton. Az iPP képződésének egy alternatív útja a kloroplasztiszban megy végbe: a metileritritol-4-foszfát úton glicerinaldehid-3-foszfátból és piruvátból előbb 1-dezoxi-D-xilulóz-5-foszfát, majd a névadó metileritritol-4-foszfát jön létre (11.7. ábra).

A **monoterpenoidok (2. osztály)** közül mind a **szabályos monoterpenoidok (1. rend)**, mind a **ciklopentanoid monoterpenoidok (2. rend)** fej-farok kapcsolódással jönnek létre. A geranilPP ppi csoportjának lehasadása után belőlük különböző glikozidok, észterek alakulhatnak ki. A kiindulási vegyület ciklizálódásával jön létre pl. a mentol és a kámfor (C6 gyűrű).



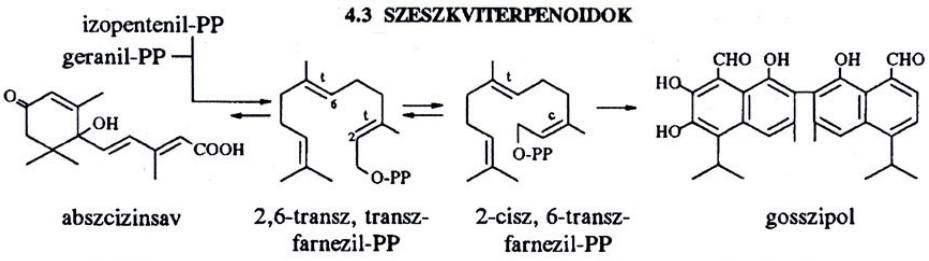
11.9. ábra A monoterpenoidok

A geranilPP származékai még az igen reaktív trialdehideken keresztül képződő O-heteroatomot tartalmazó C5 gyűrűs ciklopentanoid terpenoidok, mint a loganin és a szekologanin. Ez utóbbi fontos intermedier egyes alkaloidok szintézisében. A **3. rend**, a **szabálytalan monoterpenoidok**, képződése fej-fej kapcsolódással indul. A képződő krizantemilPP-hoz hasonló szerkezetű krizantémsav a piretrin típusú rovarölő szerek közé tartozik.

A **szeszkviterpenoidok (3. osztály)** legfontosabb képviselője az abszcizinsav (ABA) növényi hormon. Az osztály kiinduló vegyülete a farnezilPP a 2. ás 6. C atomhoz kapcsolódó kettős kötés helyzete szerint 4 különböző sztereo izomerként fordulhat elő. Ezek a bioszintézis utak tekintetében nem egyenértékűek: az abszcizinsavba például a transz-transz izomer jóval nagyobb gyakorisággal épül be, ugyanakkor az ABA bioszintézis későbbi szakaszában végbemegy egy 2-transz-2-cisz izomerizáció.

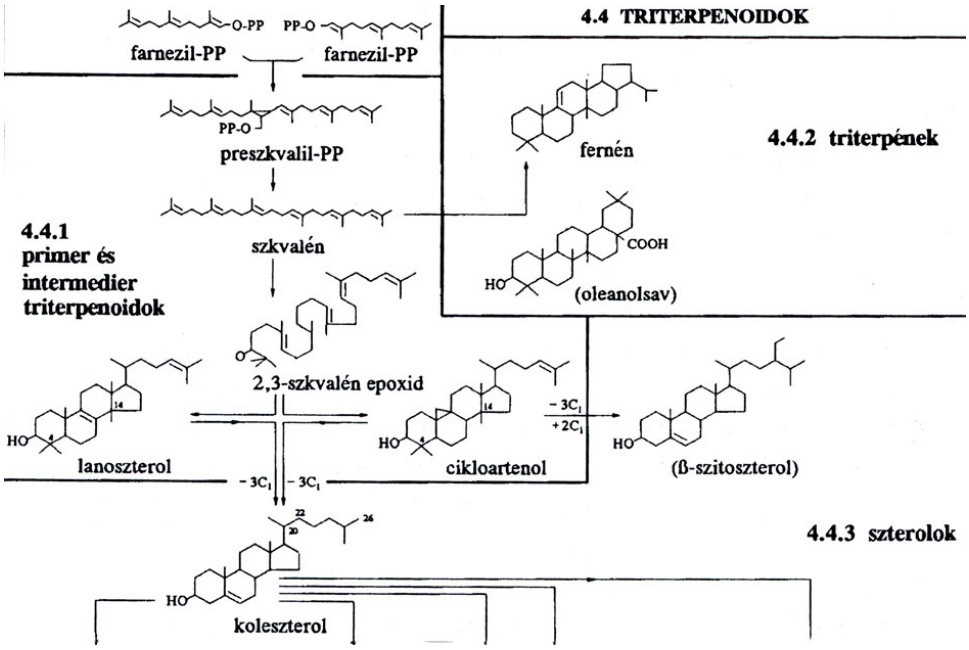
Az ABA élettani szerepe a leválási folyamatokon (levél, virág, termés) túl elsősorban a nyugalmi állapot fenntartása, a vízháztartás szabályozása (sztóma nyitás, zárás) és s stressz elleni védekezés. Az ABA bioszintézis túlnyomó részt a terpenoid úton zajlik, de létezik egy indirekt út is, ami zeaxantinból, egy karotinoidból indul a kloroplasztiszban. A zeaxantin út több enzime is stresszindukált.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



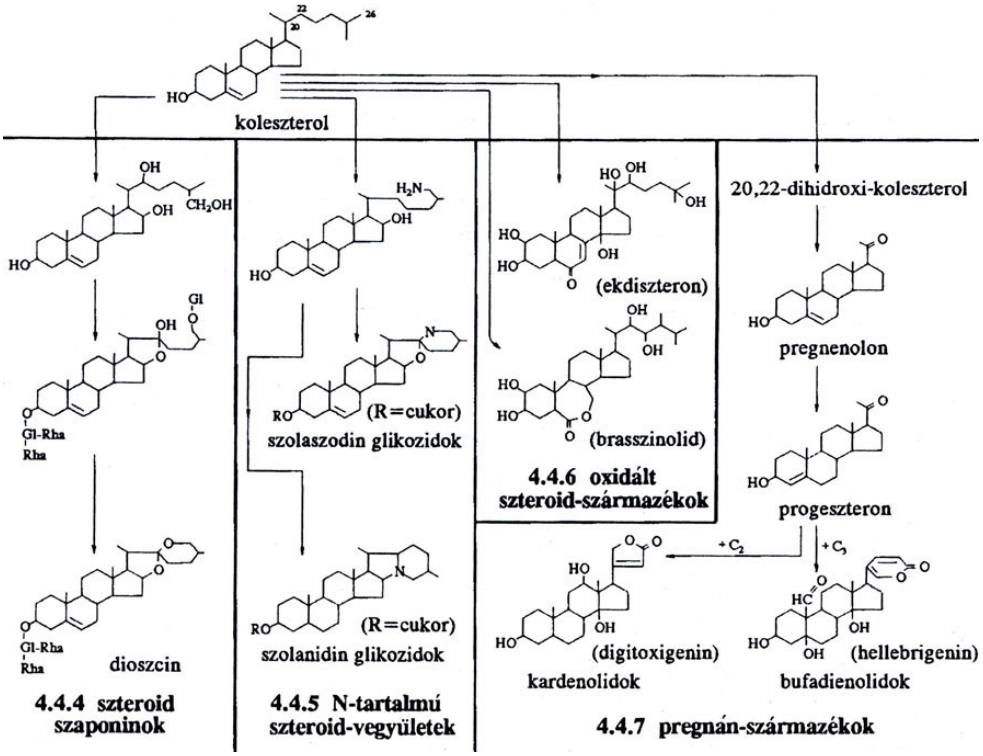
11.10. ábra A szeszkviterpenoidok.

A **triterpenoidok (4. osztály)** képződésének első lépése 2 farnezilPP fej-fej kapcsolódása. A termék a preszkvalilPP, melyben a molekula két részét ciklopropán gyűrű kapcsolja össze. Ebből alakul ki a szkvalén, majd annak epoxiszármazéka, a 2,3 szkvalén epoxid. Az ezt követő gyűrűzáródás (3C atom rövidülés) után már jól felismerhető a szterán váz mind a növényi intermedier, a cikloartenol, mind az állatok és mikroorganizmusok intermedierje, a lanoszterol szerkezetében. Mindkettő koleszterollá alakul, ami kiindulási anyag a további 5 anyagrendben. Az eddig tárgyalt intermedierek alkotják a **primer és intermedier triterpenoidokat (1. rend)**, míg a koleszterol már a **szterolok közé (3. rend)** tartozik. Feltűnő, hogy a triterpenoidok osztályában közös vonás a 3-OH csoport, ami a szkvalén epoxid 2,3 helyzetű oxigénjére vezethető vissza. Az osztály **2. anyagrend**jét alkotó **triterpének** közvetlenül szkvalénből (az epoxi származék előtti intermedier) képződnek (pl. fernén) így ezekről kivételesen hiányzik a 3-OH csoport. A **3. anyagrend**, a **szterolok** C27 vegyületek. A növényi szterolok C-atom száma gyakran 28, ez a növekmény a szteránváz 24. C-atomján jelenik meg többnyire, s ugyanitt bővülhet a lánc például a gombák esetében 2 C-atommal is (C29). A változás bekövetkezhet a szterolok kialakulásakor lezajló C3 vesztés előtt is például a β-szitoszterol esetében.



11.11. ábra A triterpenoidok 1-3. rendje.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



11.12. ábra A triterpenoidok 4-7. rendje.

A **4. rend**, a **szteroid szaponinok**é, melyek a szterán vázhoz csatlakozó további 5 és 6 C-atomos, O-heteroatomot hordozó gyűrűvel bővülnek. A képződés során először glükóz kapcsolódik a szterán vázhoz (protodioszcin), s csak ezután zárul a hattagú gyűrű (dioszcin).

A protodioszcin és a dioszcin természetes terpenoidok a királydinnyében (*Tribulus terrestris*) ill. az ideggyökérben (*Dioscorea villosa*). Mindkét hatóanyag glikozilált, a glükózhoz további két ramnóz is kapcsolódik, jelentősen javítva vízoldékonyságukat. Gyógyhatású étrend kiegészítőként alkalmazzák őket, de a megfelelő farmakológiai és orvosi vizsgálatok hiánya miatt gyógyhatásuk egyelőre nem értékelhető.

Az **5. rend**et alkotó **szteroid eredetű N-vegyületek** képződése számos analógiát kínál a 4. rend vegyületeivel, de képződésük azoktól független, a koleszterol oxidált származékaiból történik. A szolaszodin glikozidok esetében - a dioszcinhoz hasonlóan - egy 5- és egy 6-tagú gyűrű csatlakozik a szteránvázhoz transzaminálást követően. A 6-tagú gyűrű heteroatomja itt N.

A szolanidin glikozidok képződése során a C16 helyzetű O atomot valószínűleg glikozidos kötés védi, így gátlódik az 5-tagú gyűrű kialakulása. Helyette közös N-heteroatomot tartalmazó 5 és 6-tagú gyűrű jön létre.

A viszonylag kis mennyiségben termelődő a növényekre univerzális anyagok (pl. növényi hormonok) és az alacsonyabb taxonokban előforduló speciális anyagok (mint szteroidok, terpenoidok) túlnyomóan apoláris karakterűek, és vízoldékonyságuk növelésére gyakran képződik belőlük cukor származék, legtöbbször glikozid. Cukor komponens a molekula (aglikon) különböző pontjain, változó számban kapcsolódhat. A glikozilálás a vízoldékonyságon felül, védi az aglikont a sejten belüli átalakulástól, például oxidálástól. Megváltoztatja helyüket a szállítási folyamatokban, de döntő hatással lehet biológiai aktivitásukra is. A legtöbb növényi hormon ilyen származéka (glikozid, aminosavakkal képzett konjugátum) inaktív, de könnyen dekonjugálható, ami lehetővé teszi az aktív hormonszint gyors és energiatakarékos szabályozását.

Nem meglepő, hogy a rendkívül változatos szerkezetű szubsztrátok glikozilálását számos, változatos szerkezetű enzim végzi. A lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) genomjában 120 UGT (UDP-glükóz-transzferáz) gént azonosítottak. A génekből szerkezeti hasonlóságuk alapján képzett csoportok közül a D-jelű 11 olyan glikozil transzferázt kódol, melyek a növényi védekezési reakciók során aktiválódnak.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A dohány két ilyen UGT-génjének kiiktatása (antiszensz expresszió) lecsökkenti a növény ellenállását dohánymozaik vírussal (TMV) szemben. Ennek egyik jele a szkopoletin- glikozid (szkopolin) mennyiségének csökkenése. Ugyancsak csökken a hidroxi fahéjsavak koncentrációja a fertőzött sejtek szomszédságában, vagyis a glikozilálás csökkenése gátolja az aglikon felhalmozódását is. A szkopoletin (és több fahéjsav származék) antivirális hatása, valamint a káros oxigénformák semlegesítésében játszott szerepe régóta ismert. A speciális anyagok ilyen és ehhez hasonló jótékony élettani hatásai hozzájárultak ahhoz, hogy a szintézisükhöz vezető anyagcsere utak evolúciós léptékben rögzültek a növények széles körében.

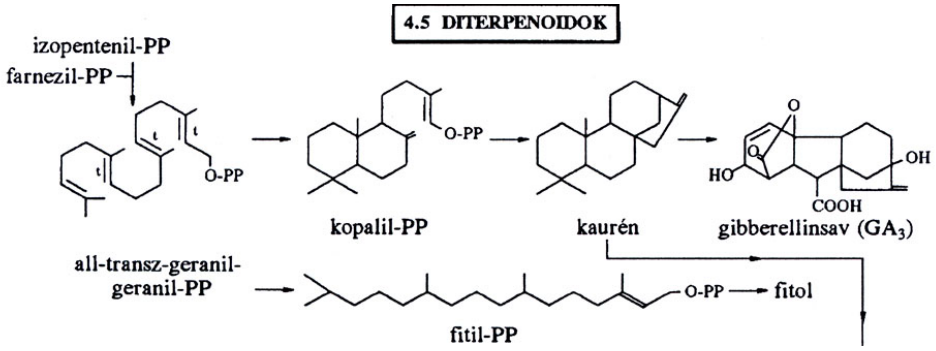
A **6. anyagrend**be tartozó **oxidált szteroid-származékok** legismertebb tagja a brasszinolid növényi hormon és a rovarok vedlési hormonja az ekdizon, mely növényekben is termelődik, sőt felhalmozódására is van példa.

A **7. anyagrend** tagjai a **pregnán- származékok** a koleszterol eredeti oldalláncának további rövidüléséből származtathatók. Legismertebb közülük a növényekben is termelődő progeszteron, vagy sárgatesthormon, a női nemi működés egyik szabályozója. Előanyaga a pregnenolon, mely az állati nemi hormonok, és a glikokortikoidok, valamint a mineralokortikoidok szintézisének is kiinduló anyaga. A progeszteronból képződik két, az oldallánc helyén lakton gyűrűt hordozó pregnán-származék csoport, a kardenolidok és bufadienolidok.

A kardenolidok közül az oubain és digoxin eredetileg a *Digitalis* és *Strophantus* növénynemzetség fajaiból izolált, a szívgyógyászatban alkalmazott hatóanyagok. A bufadienolidok között ugyancsak szívgyógyszereket találunk, mint bufalin,19- norbufalin. Ezeket a *Bufo* nemzetségbe tartozó varangyokból izolálták először. A 20. század végén mindkét anyagcsoport több tagját kimutatták az emberi szervezetben, sőt receptorukat is azonosították. Szintézisük az állati szervezetekben a pregnán-származékok előtt ágazik el.

A **diterpenoidok (5. osztály)** a C15 farnezilPP és a C5 iPP fej-farok kondenzálódásával jönnek létre. A termék, a geranilgeranilPP redukcióval fitollá alakulhat. A fitol a klorofill molekulák odalláncán lévő karboxil csoportot észteresíti.

A geranil-geranilPP részleges gyűrűzáródás után (kopalilPP) a három gyűrűből álló kaurénné, majd gibberellinsavvá alakulhat át (11.13. ábra). A gibberellinek növényi hormonok, bioszintézisük három kompartment között oszlik meg: a kloroplasztiszban mennek végbe az ent-kaurénnel záruló lépések, az endoplazmatikus retikulumban a karboxil oldalláncok jönnek létre, a citoplazmában pedig a C20 oxidálódása, majd az aktív GA-formák kialakulása. A GA_1 és GA_4 (a GA rövidítés után álló számok a GA-formák felfedezésének sorrendjére utalnak) kialakulása a GA3-oxidáz enzim közreműködésével megy végbe. Az aktív GA-szint szabályozása a többi növényi hormontól gyökeresen eltérő módon zajlik: részben a GA20 oxidáz aktivitására irányul, mely az aktív GA-formák képződését katalizálja. Másrészt a GA2 oxidáz enzimre, mely ugyanezt a két gibberellin formát irreverzibilisen inaktiválja.



11.13. ábra A ditepenoidok.

A **tetraterpenoidok (6. osztály)** 2 geranilgeranilPP fej-fej kondenzálódásából származó C40 vegyületek, többek között a **karotinoidok (1. rend)** képződésének prekurzorai. A tetraperpenoidok képződésének első lépései analógak a triterpenoidokéval: itt is egy C3 gyűrűvel összekapcsolódó intermedier, a prefitoinPP az első termék, majd a PP lehasadása következik (fitoén), végül dehidrogénezési és izomerizációs lépésekben jön létre a neurosporin, melynél a karotinoidok alapváza már kialakul. Ezt követően további H-vesztéssel jön létre az egyik leggyakoribb karotinoid, a likopin.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

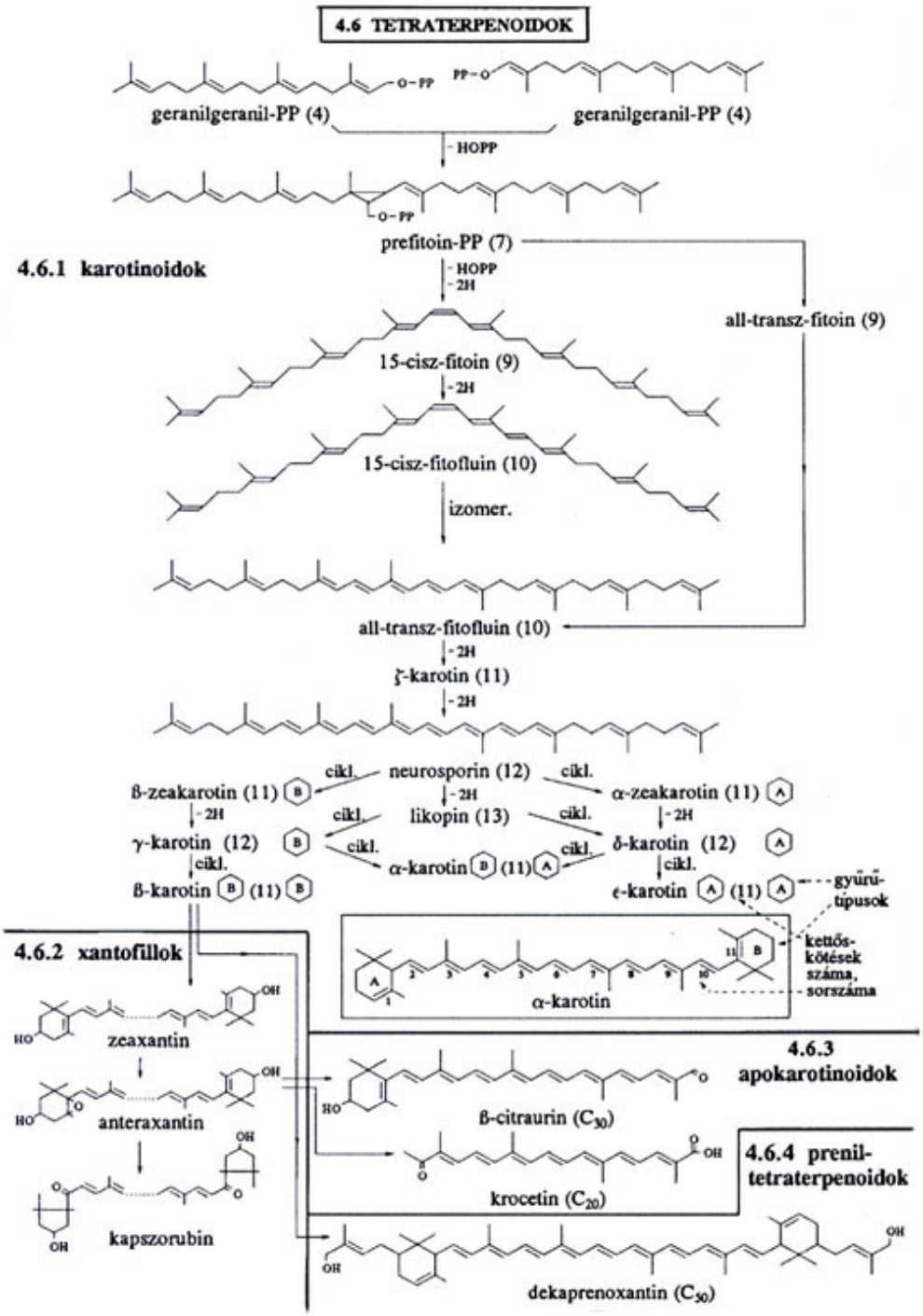
A likopin a paradicsom vörös színű karotinoidja, elterjedt élelmiszer adalék (E160), például az egyébként halványsárga színű sajtokat változtatják vele élénksárgává. Hatékony antioxidáns. Az A-vitamint (retinal) különböző karotinoidokból (α-, β-, γ-karotin és β- kriptoxantin) képes előállítani az állatok többsége, az embert is beleértve.

A neurosporinból láncvégi gyűrűzáródások révén alakul ki a karotinoidok sora, melyek a gyűrűk számában, térállásában, kettős kötések helyzetében térnek el egymástól. A karotinok hidroxi, epoxi származékai az O-tartalmú **xantifillok (2. rend)**. Végül a karotinok lebontási termékeinek tekinthető **apokarotinoidok (3. rend)** szénlánca jelentősen rövidül, a karotinok C40 méretéről C30 (β-citraurin) ill. C20 (krocetin) hosszúságra.

A karotinoidok legfőbb élettani funkciója a növényekben a fotoszintézishez kapcsolódik: a klorofillokhoz szorosan kapcsolódva kísérő pigmentként funkcionálnak. A látható fényből a 400-500 nm közötti tartományt abszorbeálják, és a gerjesztési energiát továbbítják a fotokémiai rendszer reakció centruma felé. Magas fényintenzitás esetén a klorofillok alapállapotba jutását segítik elő, gátolva ezzel a szinglet oxigén, és további káros oxigénformák kialakulását.

A terpenoidok legnagyobb méretű vegyületei tartoznak a további anyagosztályokba. A **szeszter terpenoidok (7. anyagosztály)** 5 monomerből, az **oligoterpenoidok (8. anyagosztály)**, mint betulaprenolok 6-20 monomerből, a **politerpenoidok (9. anyagosztály)**, mint kaucsuk akár több ezer C5 egységből épülnek fel. A terpenoidok többségéhez hasonlóan a betulaprenolok cisz-transz izomerekből épülnek fel, a kaucsuk azonban all-transz konfigurációjú.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



11.14. ábra A tetraterpenoidok

11.5. Azotoidok

11.5. táblázat Azotoidok

V. törzs: Azotoidok	**Példák**
1. osztály: univerzális azotoidok	
1. rend: univerzális aminosavak	ornitin, citrullin, 20 proteinogén aminosav
2. rend: univerzális aminosav származékok	klorofillok, etilén, auxinok

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

3. rend: fehérjék 1. család polipeptidek 2. család glikoproteinek	minden fehérje a glikoproteinek kivételével peroxidázok, lektinek
4. rend: univerzális purin- és pirimidin nukleotidok	AMP, GMP
5. rend: purinok és pirimidinek univerzális származékai	NAD, FAD, CoA
6. rend: nukleinsavak	minden nukleinsav
2. osztály: egyszerű speciális azotoidok	
1. rend: speciális aminosavak	hidroxi-prolin, N-metil-lizin
2. rend: aminok	tiramin, triptamin, putreszcin
3. rend: amidok	aszparagin, glutamin, kapszaicin
4. rend: speciális peptidek	glutation, homoglutation
5. rend: speciális purin-származékok	teofillin, teobromin, koffein
3. osztály: cianogén vegyületek	
	amigdalin, sambunigrin
4. osztály: glikozinolátok	
	S-glikozidok, sinalbin
5. osztály: alkaloidok	
1. rend: ornitin eredetű alkaloidok családok: pirrolizidin alkaloidok pirrolizin alkaloidok	lindelofidin atropin, nikotin
2. rend: lizin eredetű alkaloidok családok: kinolizidin alkaloidok piperidin alkaloidok	lupininaldehid pszeudopelletierin, anabazin
3. rend: tirozin eredetű alkaloidok családok: egyszerű izokinolinok fenil izokinolinok benzilizokinolinok feniletil- izokinolinok monoterpenoid tiramin eredetű alkaloidok betalainok	galantamin morfin kolhicin emetin betacianin, betaxantin
4. rend: triptofán eredetű alkaloidok családok: β-karbonilok hemiterpenoid-triptofán eredetű alkaloidok monoterpenoid-triptamin alkaloidok	harman ergokrisztin sztriktozidin

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

5. rend: antranilsav eredetű alkaloidok családok: akridin alkaloidok kiniolin alkaloidok	arboridin diktamnin
6. rend: hisztidin eredetű alkaloidok	glohicidin
7. rend: nikotinsav eredetű alkaloidok	dioszkorin

Az 5. törzsbe tartozó vegyületek a N-anyagcsere intermedierei. Minden más, a biogenetikai rendszerünkben szereplő anyag csak egy ponton, egy transzaminálási reakcióban érintkezik a N-anyagcserével. Ez a törzs talán a rendszer legváltozatosabb csoportja. Az ide tartozó vegyületek az intermedier anyagcsere fő folyamataival (Calvin ciklus, trikarbonsav-ciklus, pentózfoszfát sönt), számos ponton érintkeznek.

Az **univerzális azotoidok osztályába (1. osztály)** az **univerzális aminosavak (1. rend)** közé a 20 proteinogén aminosavon kívül a szintézisükben szereplő intermedierek (ornitin, citrullin, homoszerin, α-aminoadipinsav) tartoznak. A **2. rendbe univerzális származékaik** kerültek, mint a klorofillok, az auxinok (indol-3-ecetsav), az etilén.

A növényi auxinok három természetes eredetű formáján (indol-3-ecetsav, indol-vajsav, 4-kloro-indolecetsav) kívül a baktériumok és gombák számos auxin-származékát ismerjük. Ezek gyakran egy patogén faj szisztemikus elterjedését segítik elő, de a sejt közötti járatokban élő endofiták auxin származékai mikroorganizmusok visszaszorítását okozzák. Az auxin bioszintézis triptofánból indul, de létezik triptofánt nem igénylő változata is. Ez esetben a hormon szintézise a sikimisav út korábbi elágazásával, pl. korizminsavból indul.

Az etilén bioszintézis SAM-ból (S-adenozil-metionin) indul, melyről egy lépésben C3 ciklusos származék hasad le, az 1-aminociklopropán-1-karbonsav (ACC, az enzim: ACS-aminociklopropán-szintáz). Egy további oxidációs lépésben (ACO-aminociklopropán-oxidáz) ebből jön létre az etilén. Az első lépésben felszabaduló 5-metil adenozinból a Yang-ciklusban, 5 további lépésben regenerálódik a SAM. Az illékony etilén szintjét a növények az ACC képződésén keresztül szabályozzák.

A **fehérjék** alkotják a **3. rendet**, a további 3 rend a nukleinsav anyagcseréhez kötődik:

a **4. rendbe az univerzális purin- és pirimidin nukleotidok** (ATP, GTP,CTP…) az **5. rendbe** pedig azok **származékai** tartoznak. A származékok egy része koenzim, mint NAD, FAD, CoA, de ide tartozik az univerzális metildonor AdoMet, vagy SAM is. Nevezhetjük ezeket egységesen donor vegyületeknek is, hiszen a koenzimek is atomok (H), vagy atomcsoportok (acetil, malonil) donorai. Közös jellemzőjük még, hogy a szállított atom/atomcsoport olyan kötésben fordul elő, mely nagy energiájú, aktív, ezért könnyen kapcsolódik a reakciópartnerhez. Ugyancsak donor vegyületek az UDP cukrok, a PAPS (3,-foszfoadenozin-5, foszfoszulfát=SO_4 donor) és a CDP-lipidek. A CDP (citidin difoszfát diacilglicerol) diacilglicerol donor, turn-overe magas, gyorsan átalakul foszfatidil glicerollá, majd ez foszfatidilinozitollá. Utóbbi fontos másodlagos jelátvivő.

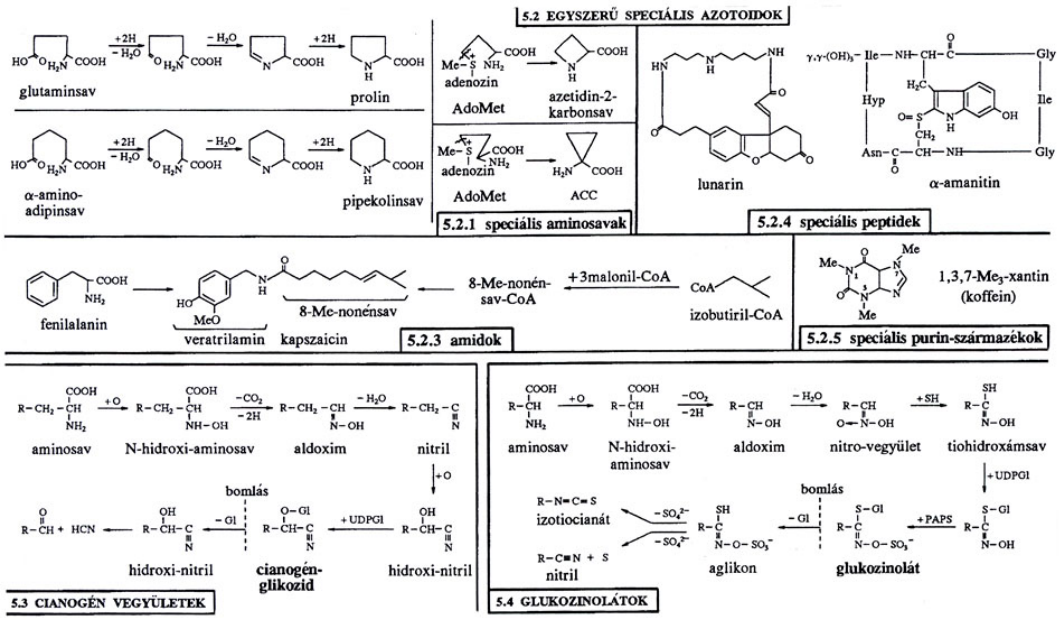
Az 5. rend legismertebb képviselői a citokininek. A három természetes citokinin forma közül az izopentenil-adenozin (ipA) AMP és dimetil-allil-difoszfát reakciójában keletkezik. A folyamatot az IPT (izopentenil-transzferáz) enzim katalizálja. Az ipA további átalakulásával jön létre a két másik természetes citokinin forma, a transz-zeatin és a dihidro-zeatin. Az IPT génje az *Agrobacterium tumefaciens* növénykorokozó génállományából a gazdanövény genomjába átjutva intenzív citokinin szintézist, és mértéktelen sejtosztódást generál, ezzel elősegítve a baktérium elszaporodását.

Az osztály **6. rendje a nukleinsavak**, a ribo- és dezoxiribonukleotidok polimerjei.

A **2. osztály** vegyületei (**egyszerű speciális azotoidok**) az 1. osztály anyagaiból képződnek, a növények szűkebb körében, így speciálisak. A **speciális aminosavak (1. rend)** legtöbbször egyetlen lépésben származtathatók a megfelelő aminosavból, ilyen a hidroxi-prolin,vagy az S-metil-metionin. Ide tartoznak az univerzális aminosavak sztereoizomerjei (D-lizin, D-arginin stb.) is. Az aminosavak dekarboxilezése vezet a **2. rend**be tartozó **aminok** képződéséhez: tirozin – tiramin, triptofán – triptamin. Két láncvégi aminocsoportot tartalmaznak az ornitinből származtatható diaminok, mint a putreszcin. A **3. rend**be tartozó **amidok** között univerzálisak az aszparaginsav és glutaminsav aminosavak savamidjai, az aszparagin és glutamin. Egy speciális amid a kapszaicin, a paprika

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

csípős hatóanyaga. Fenilalaninból és 8-Me-nonénsavból képződik. Ez utóbbi izobutiril-CoA-ból és 3 mol malonil-CoA-ból jön létre.



11.15. ábra Az Azotoidok 3., 4. és 5. osztálya, az egyszerű speciális azotoidok, a cianogén vegyületek és a glukozinolátok. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

A **4. rend**et alkotó **speciális peptidek** közül univerzális a glutation, redox folyamatokban vesz részt. Tripeptid, melyben 2 aminosav (glicin és cisztein) szabályos peptidkötéssel kapcsolódik, míg a harmadik, a glutaminsav, oldalláncban lévő karboxil csoportjával köt a cisztein amino -csoportjához. A glutation speciális változata a homoglutation szójában, *Phaseolus* fajokban fordul elő. Szerkezete és funkciója is hasonló a glutationéhoz, de itt glicin helyett β-alanint találunk. A legsúlyosabb gombamérgek egyike az amatoxinok közé tartozó α-amanitin egy ciklikus peptid, mely a gyűrűn belül egy további hurkot is tartalmaz. Különös szerkezete ellenére a riboszómán szintetizálódik, és végső alakját utólagos módosítással nyeri el. RNS polimeráz gátló, elsősorban a májsejtek pusztulását okozza. A legtöbb ciklikus peptid, és jó néhány lineáris peptid (mely speciális aminosavakat is tartalmaz) azonban a riboszómán kívül, az u.n. nem riboszómális peptid szintetáz komplexen termelődik. Ez a komplex baktériumokban és a gombák egy részében van jelen, és olyan hatóanyagokat termel, mint Bleomycin (antitumor hatású lineáris peptid cukor komponensekkel - *Streptomyces verticillus*), Ciklosporin (ciklikus peptid immunszupresszor hatású - *Tolypocladium niveum* gomba) Vancomycin (antibiotikum, ciklikus peptid cukor komponensekkel - *Streptomyces orientalis*).

A legismertebb **speciális purinszármazékok (5. rend)** a tea „purin alkaloidjai”, a teofillin (1.3- dimetil xantin), a teobromin (3,7-dimetil xantin) és a koffein (1,3,7-trimetil xantin) AMP-ből, ill. GMP-ből képződnek.

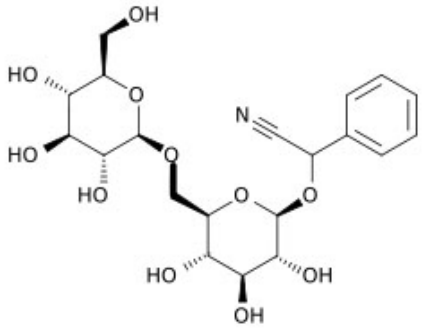
Coffea arabica

Koffein

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

11.16. ábra A tea fő alkaloidja, a koffein

A **3. osztály** a **cianogén vegyületek**et foglalja magába, köztük a legismertebb amigdalint (11.17. ábra). Képződésük aminosavból indul, és dehidrogenálás, dekarboxilezés révén alakul ki először az aminosav (az amigdalin esetében a fenilalanin) nitril származéka. Ezután a glikozilálódást előkészítő oxidálás következik, majd a cianogén vegyületet stabilizáló glükozilálás (UDPGl). Viszonylag kevés (kb. 30) széles körben (100 növénycsalád) elterjedt vegyület tartozik ide. Amigdalint tartalmaz a keserűmandula (*Prunus dulcis*), a kései meggy (*Prunus serotina*) a babérmeggy (*Prunus laurocerasus), a* kajszibarack *(Prunus armeniaca)* és számos más növény termése. A mag összezúzásakor aktivizálódik egy, addig az amigdalintól elkülönült enzim, és felszabadítja a mérgező cianhidrogént (kéksav=HCN). Kis mennyiségben csak kesernyés ízt ad például a magjával együtt fermentált gyümölcsökből párolt pálinkáknak, de nagyobb mennyiségben súlyos mérgezést idézhet elő.



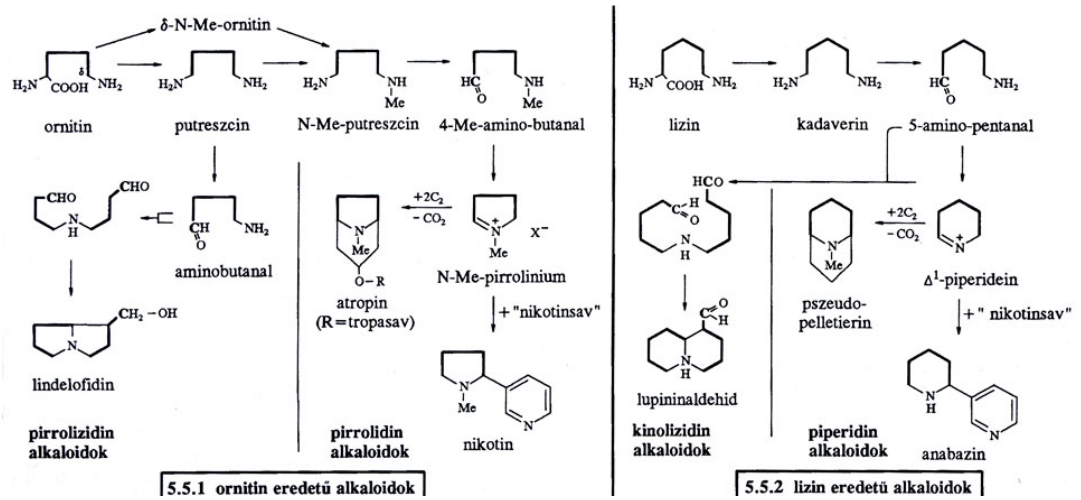
11.17. ábra Amigdalin

A **glikozinolátok** adják a **4. osztály**t, jellemzően aminosavakból képződnek, és szintézisük kezdeti, aldoximet eredményező lépései megegyeznek a cianogén vegyületekéivel. Ezután cisztein és PAPS közreműködésével S-tartalmú vegyületek, S-glükozidok jönnek létre. A glikozinolátok száma mintegy 100, elterjedésük néhány növénycsaládra (pl. *Cruciferae*) korlátozódik.

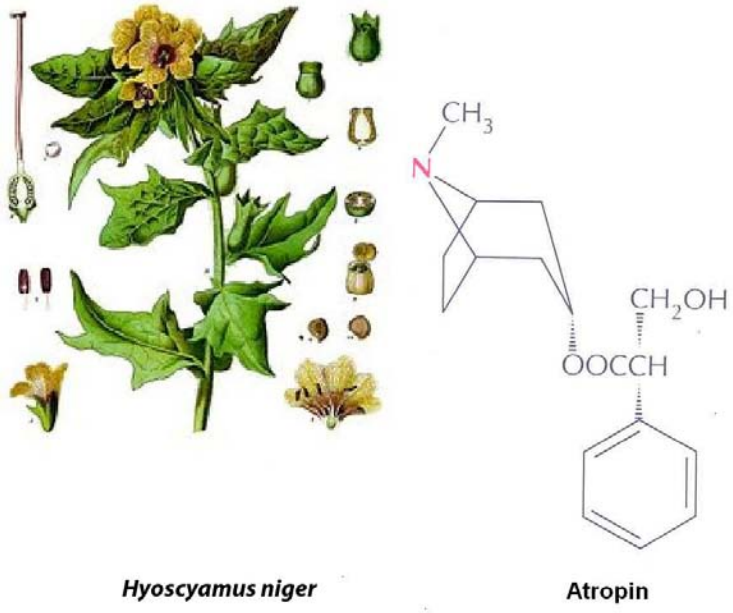
Az azotoidok törzsének kétségkívül legfontosabb vegyületei az **alkaloidok (5. osztály)**. Ez a csoport rendszerünkben szűkebb értelmezésű, mint a korábbiak, nem foglalja magába például a már említett purin alkaloidokat. Meghatározásunk szerint az alkaloidok képződése a N-anyagcsere specializálódásának eredménye, fő útja univerzális N-vegyületekből (aminosavak) indul ki, és N-heterociklus kialakulásához kötött. Ez a behatárolás szűkebb, mint az általános alkaloid megjelölés, ami az N-heterociklus meglétét és „jelentős élettani hatást" követel csak meg. Az **egyszerű speciális azotoidok (2. osztály)** **5. rendje**, a **purinszármazékok** (koffein, teofillin, teobromin) például a hagyományos felfogás szerint alkaloidok, biogenetikai rendszerünkben azonban már nem, mivel speciális purinszármazékok további metilálásával jönnek létre. A meghatározásunknak is megfelelő valódi alkaloidok aminosavakból képződnek, valamint „aminosav-szerű" univerzális N-vegyületekből, mint antranilsav és nikotinsav. Az antranilsav az auxinok (pl. indol-3-ecetsav) bioszintézisének is lehet kiinduló anyaga (ez a nem triptofánból induló auxin bioszintézis), így univerzális, de szerkezete is aminosavra emlékeztet (β-aminokarbonsav). A nikotinsav maga is gliceraldehidből és egy aminosavból, az aszparaginból jön létre Schiff-bázison keresztül. Az alkaloidok képződésének másik elterjedt reakció típusa a Mannich-reakció. Ebben három reakciópartner (amin, karbonil, és egy elektronhiányos C-atom) között jön létre két kötés. Az amin és az elektronegatív C-atom általában egy aminosavon, míg a karbonil csoport valamely C1, C3, C5 vegyületen foglal helyet. Bár az alkaloid képzés jellemzően a magasabb rendű növények sajátsága, egyre több adat igazolja, hogy mikrobák és állatok is képesek egyes alkaloidok szintézisére.

Ornitin eredetű alkaloidok adják az 5. osztályban az **1. rend**et, míg **lizin eredetű alkaloidok** a **2. rend**et. Mindkét vegyület diaminosav, és átalakulásuk első lépése dekarboxilezés, ami mindkét esetben poliamint (putreszcin ill. kadaverin) eredményez. A poliaminok egyik láncvégi amino-csoportja helyén transzaminálást követően aldehid csoport jön létre. Ez a vegyület (aminobutanal, ill. 5-aminopentanal) már „hajlamos" gyűrűvé záródni, s létrejön az N-Me-pirrolinium (ornitinből), ill. a piperidein (lizinből). A C-atomszám növekedésével származtathatók a pirrolidin alkaloidok (pl. atropin, 11.19. ábra), ill. a piperidin alkaloidok (pl. pszeudopelletierin). Két-két aminosavból kiinduló szintézisben kettős gyűrűt tartalmazó származékok jönnek létre: a **pirrolizidin alkaloidok** ornitinből, ill. a **kinolizidin alkaloidok** lizinből.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



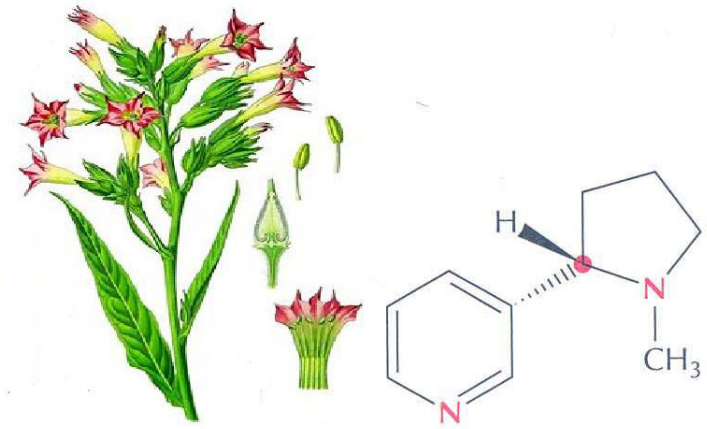
11.18. ábra Az ornitin és lizin eredetű alkaloidok képződése. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.



11.19. ábra A beléndek és pirrolidin alkaloidja, az atropin.

Az egy-egy aminosavból létrejött származékokhoz nikotinsav kapcsolódhat, így jön létre a nikotin (11.20. ábra) ornitinből, ill. az anabazin lizinből.

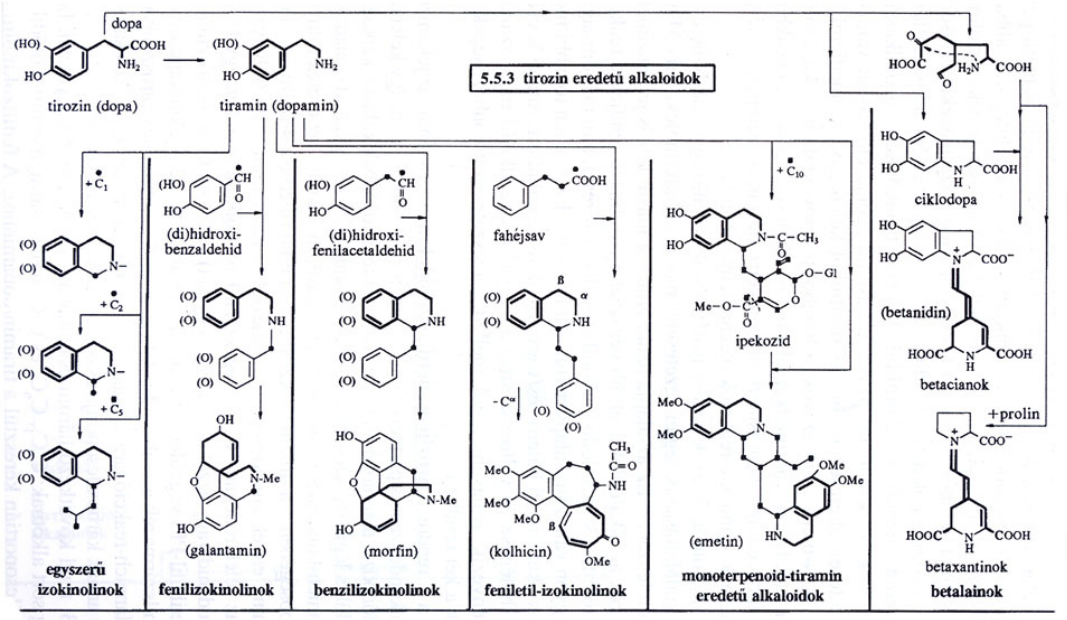
XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



Nicotiana tabacum **Nikotin**

11.20. ábra A dohány rovarölő alkaloidja a nikotin

A **tirozin eredetű alkaloidok** alkotják a **3. rend**et. Itt is megfigyelhető egy visszatérő analógia a tirozin, és a DOPA (dihidroxi-fenilalanin) között. Első lépésben mindkettőből amin-származék jön létre dekarboxilezéssel (tirozin-tiramin, dopa-dopamin). Tiraminból képződnek az **egyszerű izokinolinok (1. család)**, melyeknél formaldehid, vagy DMAPP kondenzál az így létrejött aminnal és a **fenil-izokinolinok (2. család)**, ahol C6C1 vegyület kapcsolódik az aminnal. Dopaminból származtathatók a **benzil-izokinolinok (3. család)**, a **feniletil-izokinolinok (4. család)** és a **monoterpenoid-tiramin eredetű alkaloidok (5. család)**. Ez utóbbi elnevezés abból adódik, hogy a tiraminhoz itt egy C10 intermedier, a ciklopentanoid monoterpenoidoknál megismert szekologanin kapcsolódik. A benzil-izokinolinok legismertebb képviselője a morfin, hatásos fájdalomcsillapító és altató, egyben a mák tejnedvéből előállított ópium egyik legfontosabb alkaloidja. Diacetil származéka a legveszélyesebb kábítószer, a heroin, metilszármazéka pedig a kodein, hatékony köhögés csillapító.



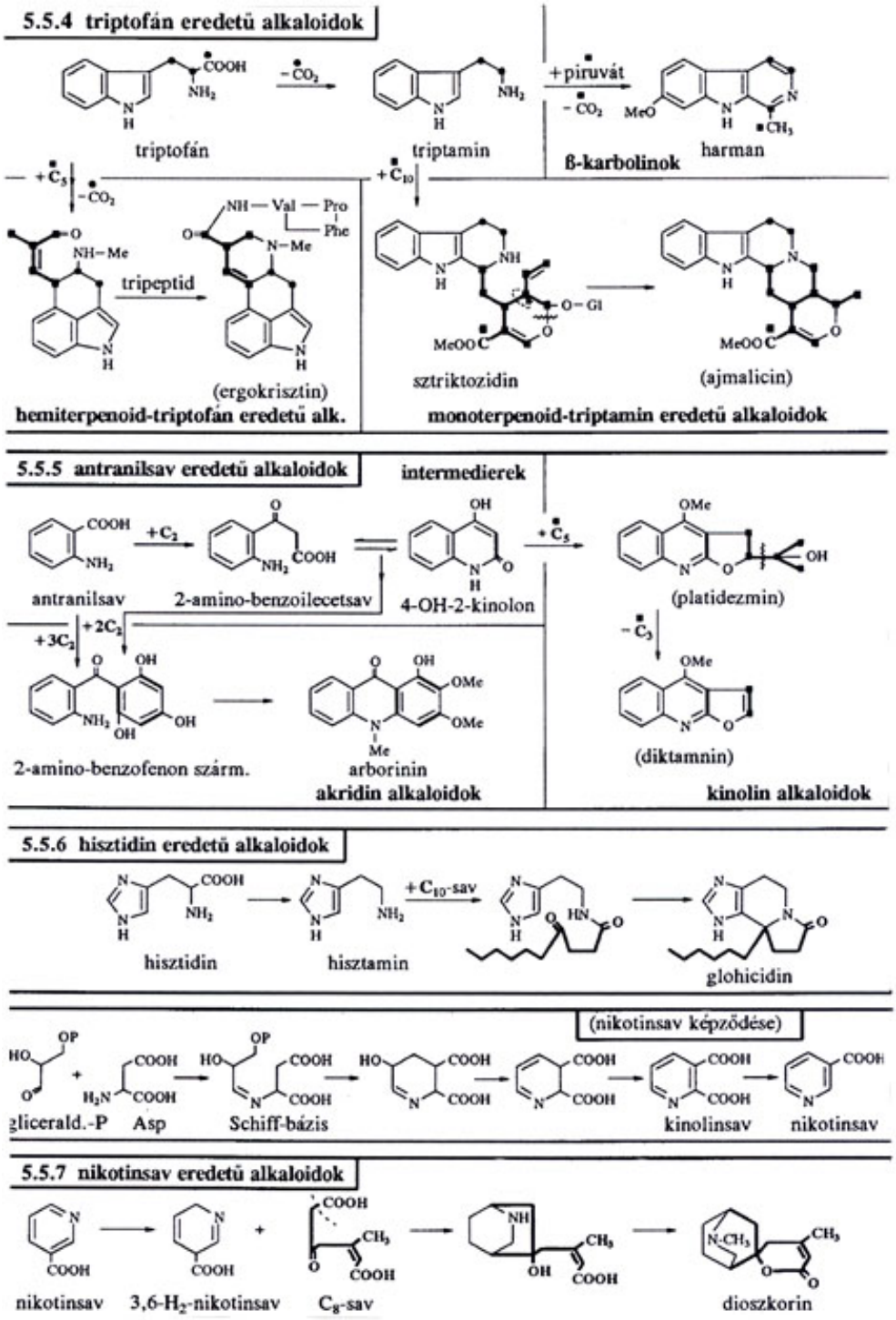
11.21. ábra A tirozin eredetű alkaloidok képződése. Az ábra nagy méretben ide kattintva tölthető le.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

Sajátos sorozatot képez a tirozin eredetű alkaloidok 2.-4. családja: a dopaminhoz kapcsolódó partner rendre C6C1, C6C2 és C6C3. Végül, a tirozinból származó alkaloidok **6. család**ja a **betalainok**é nem aminból, hanem a DOPA-ból származik. Első lépésben az aromás gyűrű felbomlik, majd a keletkező dikarbonsav ciklodopával kondenzál betacianná. Ha a ciklodopa helyett prolin kapcsolódik a nyíltláncú dikarbonsavval, akkor betaxantinok képződnek. A Szegfűvirágúak rendjébe (*Caryophyllales, Centrospermae*) tartozó növény családok többségére (pl. a betalainok nevét adó céklát - *Beta vulgaris* - is magába foglaló Disznóparéjfélékre) jellemző a betalainok előfordulása. Ezek a növények a tipikus növényi színanyagokat, az antociánokat viszont egyáltalán nem termelik. Mindössze a rend két családjában (*Caryophyllaleceae, Molluginaceae*) találunk antociánokat, ezekből viszont hiányzik a betalain termelés képessége. A kétféle anyagcsoport jelen ismereteink szerint nem fordul elő együtt a növényekben. Másképp: az anyagcsereutak – különösen a speciális, alacsony taxonokra jellemzően – taxonokhoz kapcsoltak, „filogenetikai hovatartozásúak". A betalainok ugyanakkor képződnek gombákban is, pl. a légyölő galócában (*Amanita muscaria*). Ez nyilvánvalóan nem filogenetikai kapcsolat, hanem konvergencia, a gombákban és a fenti növénycsaládokban a betalain szintézis egymástól függetlenül alakult ki.

A **triptofán eredetű akaloidok (4. rend)** jelentős része a monoterpenoidoknál megismert szekologanin és a triptamin kondenzációjából származik. A **6. rend**be tartozó **hisztidin-eredetű alkaloidok** száma, és ismertsége egyaránt csekély. A hisztidin dekarboxiláz hatására létrejött hisztamin kevéssé ismert lépésekben kondenzál egy C10 vegyülettel, és jön létre a glohicidin. Az állati és emberi szövetek gyulladásos reakcióban kulcsszerepet játszó hisztamin élettani hatását növényekben egyelőre nem igazolták.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



11.22. ábra A triptofán eredetű alkaloidok képződése.

A nikotinsav eredetű alkaloidok kiinduló vegyülete a nikotinsav, redukciót követően kondenzál egy C8 vegyülettel, s jön létre egy megváltozott szerkezetű, N-heteroatomot is tartalmazó gyűrű. Tipikus képviselőjük a két gyűrűből felépülő dioszkorin, a yam (*Dioscorea villosa*) gyökér egyik alkaloidja. A nikotin (11.20. ábra) megfelelő koncentrációban hatékony rovarölő szernek bizonyult, éppúgy, mint a koffein (11.16. ábra). Mindkét példa azt a hipotézist támasztja alá, hogy az alkaloid képzés egyik lehetséges élettani szerepe a növények védelme. Az állítás értékéből mit sem von le a tény, hogy a koffein felfogásunk szerint nem tartozik az alkaloidok közé, ugyanakkor szerkezetileg nyilvánvaló a rokonság. Rovarrágás például jelentősen növeli a dohány (*Nicotiana tabacum*) nikotin termelését, de egyéb biotikus stresszhatások is kiváltják egyes alkaloidok szintézisének felgyorsulását. Az alacsony

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

dózisban is jelentős élettani hatásokat kiváltó alkaloidok feltehetően a kémiai alapú kölcsönhatásokat közvetítik növények és velük együtt élő partnereik és/vagy kártevőik, kórokozóik között.

A biogenetikai rendszer leírását a legváltozatosabb csoporttal, az alkaloidokkal zártuk. A bemutatott nagyobb anyagrendszertani egységeknél a teljességre törekedtünk, ugyanakkor az egyes speciesek tekintetében a felsorolás, jellemzés ebben a terjedelemben csak kiragadott példákra terjedhetett ki.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

12. fejezet - Növényi szimbiózisok élettana

szerző: Dr. Parádi István

A fejezet célja a növények és mikroorganizmusok közötti, mutualista (mindkét fél számára kölcsönösen előnyös) jellegű szimbiózisok élettani szerepének bemutatása. A görög eredetű szimbiózis kifejezést szigorúan annak de Bary-féle definíciója és eredeti jelentése (egymástól különböző élőlények együttélése) szerint alkalmazzuk. A növény-mikroba kapcsolatok rendkívüli változatossága és alapvető biológiai szerepe miatt a fejezet terjedelmi korlátai nem teszik lehetővé azok teljes bemutatását, lényeges csoportok most kimaradtak (pl. endofiton gombák, nem pillangós nitrogénkötő bakteriális endoszimbiózisok, stb.).

A növény-mikroba szimbiózisok legfőbb, de nem kizárólagos élettani jellemzője, hogy valamilyen tápanyaghiány esetére való alkalmazkodást jelentenek. A legtöbb esetben emellett számos egyéb ponton kapcsolódnak a növények élettani folyamataihoz, a vízháztartáson és hormonháztartáson keresztül a védekezési rendszerig.

A növények nitrogén ellátása a környezet látszólagos N-bősége (légköri N_2, humusz) ellenére limitált, mivel (1) nincs nitrogenáz enzimük a N_2-fixációra, (2) csak az oldható szervetlen N-formákat képesek asszimilálni. Felvehető nitrogénből pedig általában kevés van a legtöbb talajban, csakúgy, mint foszforból és egyes esszenciális mikroelemekből is. Sok növény a tápanyagellátás problémáira a megoldást tehát olyan szimbiotikus organizmusokkal való kooperációban találja meg, amelyek képesek a N_2 fixálására vagy a talaj oldhatatlan N, P, stb. formáinak mobilizálására. A biológiai nitrogén-fixáció például évente megközelítőleg 180 millió tonna nitrogént juttat a légkörből a talajokba, amelynek 80%-a növény-mikroba szimbiotikus kapcsolatok révén keletkezik, a fennmaradó rész pedig szabadon élő, vagy gyökérasszociált szervezetek által. A partnerek és a szövettani elhelyezkedés szempontjából is nagyon változatosak a növények és mikroorganizmusok közötti mutualista szimbiózisok, ami arra utal, hogy az evolúció során ugyanarra a feladatra is valószínűleg egymástól függetlenül, több alkalommal jöhettek létre.

12.1. Bakteriális szimbiózisok

12.1.1. Növényi növekedést serkentő rizobaktériumok

A **rizoszféra** első leírását Lorenz Hiltner adta 1904-ben, aki megállapította, hogy a gyökér és a talaj határfelületén kell lennie egy rétegnek, amelyben közvetlen kapcsolat alakul ki a növény és a talajbaktériumok között és pillangósokban a gyökér által kibocsátott anyagok specifikus és a növény számára hasznos mikrobákat vonzanak. A rizoszféra a talajnak az a gyökeret körülvevő zónája, amelyre az hatással bír. Határa nem húzható meg élesen, mérete pedig időben és térben változik attól függően, hogy éppen a rizoszféra mikroorganizmusaira, a mobilis vagy kevésbé mobilis tápanyagokra, vagy esetleg a gyökér által kibocsátott messzire jutó illékony anyagokra vonatkoztatjuk. A növény által kibocsátott exudátumok (pl. cukrok, aminosavak) és elhalt növényi részek tápanyagforrást biztosítanak a rizoszféra mikrobiális életközösségeinek, mennyiségük és összetételük pedig szabályozza azt. A gyökér emellett más módokon is befolyásolja a rizoszférát, például a pH, vagy az oxidációs viszonyok változtatásával, fémek komplexálásával, szerves savak kibocsátásával, enzimek termelésével, illetve a talaj víztartalmának és szerkezetének (aggregátumok képzése és stabilizálása) módosítása révén.

12.1.1.1. Bakteriális diverzitás

A **növényi növekedést serkentő rizobaktériumok (plant growth promoting rhizobacteria - PGPR)** jelen ismereteink szerint a rizoszférában élő baktériumok 2-5 %–át tehetik ki. Olyan szabadon élő, vagy gyökérasszociált (gyökérfelszínt vagy intercelluláris tereket kolonizáló) baktériumok tartoznak ebbe a csoportba, amelyek segítik a növény növekedését, vagy stressztűrő képességét. Néhányan a szimbionta gyökérkolonizáló baktériumokat (*Rhizobium, Frankia*) is ebben a csoportban helyezik el, de a szűken vett (és jelen jegyzet keretein belül is értelmezett) PGPR csoportba is számos nemzetség tagját sorolják (pl. *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, stb.). Az *Azoarcus*, *Burkholderia* és *Herbaspirillum* nemzetségek egyes tagjai endofiton életmódra is képesek, a *Rhizobium* és rokon nemzetségei pedig a szabadon

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

élő PGPR csoportba tartoznak, amennyiben egy olyan növény részére jelentenek növekedési előnyöket, amely nem specifikus gazdaszervezet és amelyben nem alakítanak ki gyökérgümőket. A PGPR csoportra alkalmazzák a növényi egészségvédő (plant health promoting rhizobacteria - PHPR), vagy gyökérgümő-serkentő (nodule promoting rhizobacteria - NPR) baktériumok kifejezéseket is.

A PGPR közvetítette előnyök sokrétűek lehetnek: (1) javíthatják a tápanyagellátást (biofertilizátorok), (2) növénybetegségek tüneteit és kórokozók fertőzésének mértékét csökkenthetik (bioprotektánsok, biopeszticidek), (3) növekedés-szabályozó anyagok vagy (4) vitaminok termelése révén fejthetnek ki pozitív élettani hatást a növényre (biostimulánsok), illetve (5) xenobiotikumok lebontását serkenthetik (rizomediátorok). Bizonyos abiotikus stresszfaktorok ellen is védelmet nyújthatnak (szárazság, sóstressz, magas hőmérséklet, áradás, oxidatív stressz, UV). Sok esetben egy-egy PGPR faj többféle módon is előnyére válhat a növénynek, egy nitrogénfixáló faj például hormontermelésre is képes lehet, vagy a növény védekezési rendszerét is serkentheti egyben.

A nitrogénfixáló endoszimbionta fajok (pl. *Rhizobium*) is rendelkeznek számos fentebb említett PGPR tulajdonsággal az endoszimbiózis kialakításának képessége mellett (pl. hormon- és vitamintermelés, fitosziderofór-termelés, foszfát-szolubilizálás, patogének elleni védelem). Bizonyos esetekben egyes *Rhizobium* fajok képesek nem pillangós növényeket is kolonizálni, például rizs, búza vagy kukorica esetén figyelték meg behatolásukat a gyökér apoplasztba az oldalgyökerek kilépési pontjainál. Egy különleges példa a fotoszintetizáló *Bradyrhizobium*, amely trópusi pillangósok szárán képez nagyon hatékonyan működő nitrogénfixáló gümőket.

A PGPR jelenléte a gyökér környezetében elsősorban a gazdanövénytől függ, ugyanis ezen baktériumok alapvető szénforrásai a gyökér által kibocsátott exudátumok, amelyek növényfajtól és környezeti körülményektől függő minősége és mennyisége a baktériumok diverzitását és biomasszáját is meghatározza.

12.1.1.2. PGPR baktériumok szerepe a tápanyagellátásban

A szabadon élő **diazotróf (nitrogénfixáló) növekedésserkentő baktériumok** egész sora található meg a természetes rizoszférákban, de izolálhatók a legfontosabb mezőgazdasági növények (rizs, búza, kukorica, cukornád, gyapot) gyökeréről is. Különösen nagy jelentőségük van oxigénhiányos talajokban, ahol a denitrifikáció hatására lecsökken a nitrát mennyisége. Erre utal az is, hogy számos diazotróf baktérium anaerob, vagy mikroaerob körülmények között található meg (pl. rizs rizoszféra). Kiemelhetőek az *Azotobacter* fajok (pl. *A. vinelandii* és *A. chroococcum*), vagy az elsősorban fűféléket kolonizáló, de gazdaspecificitással nem rendelkező *Azospirillum* fajok (pl. *A. brasilense*, *A. lipoferum*). Az *Azospirillum brasilense* hormontermelése révén serkenti a gyökér növekedését és anyagcseréjét, amely hozzájárul a nagyobb mértékű víz-, és tápanyagfelvételhez. Az alacsony talaj pH iránt toleráns *Gluconoacetobacter diazotrophicus* a cukornád N igényének több, mint felét képes biztosítani. További diazotróf fajok a magas pH és sótoleráns *Azoarcus*, a *Burkholderia*, az *Enterobacteriaceae* családba tartozó *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, ill. *Pseudomonas*, valamint a rizs N ellátásának akár felét biztosítani képes *Herbaspirillum* génuszok tagjai.

A **foszfát-szolubilizáló baktériumok** (phosphate-solubilizing bacteria - PSB), a talajban lévő oldhatatlan szerves (pl. fitát) és szervetlen (kálcium-foszfát, apatit) foszforformákat képesek a növény számára felvehető inorganikus foszfáttá (P_i) alakítani (pl. *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Bacillus*, *Rhizobium*, stb. fajok). A szervetlen foszfátokat szerves savak (pl. glükonsav, tejsav, valeriánsav, ecetsav, oxálsav, stb.) vagy H^+ szekréciója révén oldják fel. A szerves foszfátok mineralizációja például foszfatáz, fitáz enzimek leadásával valósul meg.

Vashiányos környezetben egyes baktériumok (*Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus*) sziderofórokat termelnek (pl. entrobaktin), hogy komplexálják a Fe^{3+}iont, amely így felvehetővé válik.

12.1.1.3. PGPR baktériumok szerepe a növényi hormonháztartásban és stresszélettanban

A PGPR csoportba tartozó szervezetek növényi növekedés-szabályozó anyagok szintézise és exportja révén képesek közvetlenül is befolyásolni a növényi növekedést és fejlődést. A rizoszférából izolálható PGPR baktériumok többsége képes indolecetsav, valamint citokinin és etilén termelésére, de gibberellinsav és abszcizinsav termelését is kimutatták náluk. Az auxintermelés a baktériumok kolonizációjához és a növényi védekezőrendszer kikerüléséhez járul hozzá. Gyakori, hogy éppen a stresszhelyzetben megemelkedett etiléntermelés gátlásával serkentik a gyökér növekedését, amit az ACC deamináz enzim valósít meg, az ACC (etilén prekurzor) bontásával. Jelentős szerepük lehet szerves (herbicidek, peszticidek, xenobiotikumok) vagy szervetlen (nehézfémek) szennyezők

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

biodegradációjában vagy akkumulációjában, ezért a fitoremediációs alkalmazási lehetőségeik is jelentősek. A *Kluyvera ascorbata* nevű baktérium példáulnagy mennyiségben képes a nehézfémek (Ni^{2+}, Pb^{2+}, Zn^{2+}, and CrO^{4-}) akkumulációjára. Azonos fémkoncentráció mellett növeli a teljes hajtástömeget, ezáltal emelve a növény fitoextrakciós (növényi fémkivonás) képességét. *Azospirillum* fajok esetén megfigyelték az ozmotikus stresszhez való adaptációt glutamát, prolin, glicin-betain és trehalóz akkumuláció révén, amelynek során a kolonizált növények víztartalma magasabb volt.

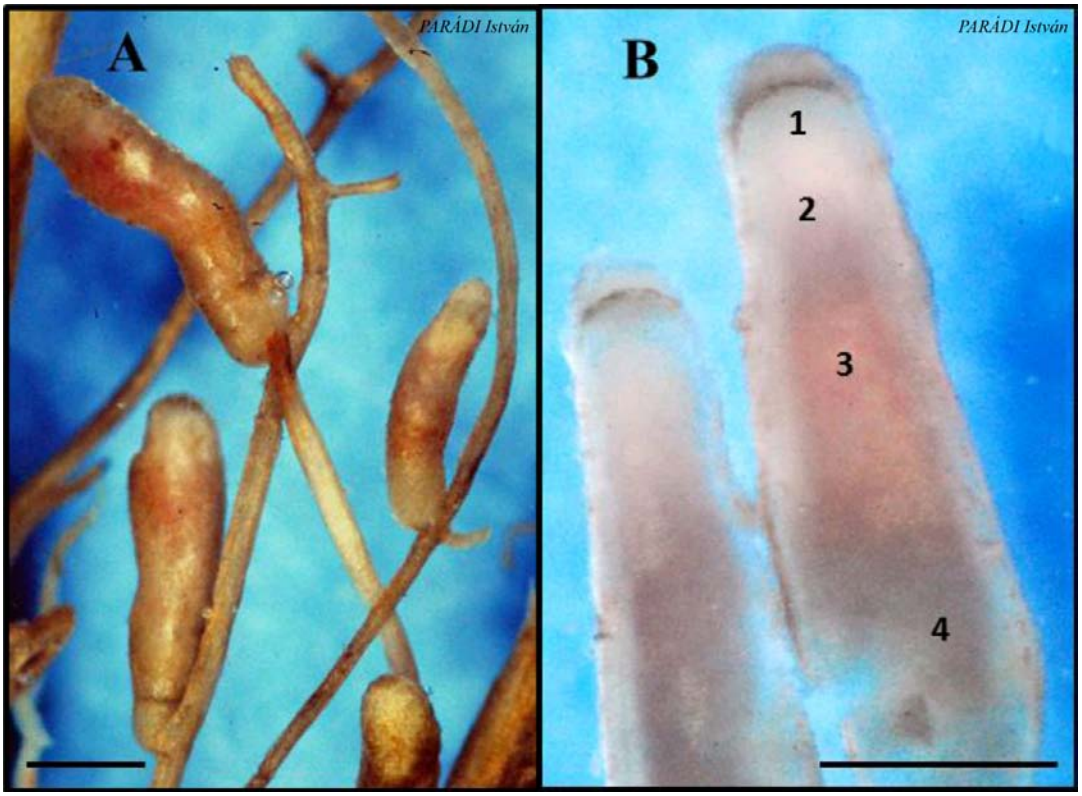
12.1.1.4. PGPR baktériumok szerepe a kórokozók elleni védelemben

A PGPR baktériumok jelentős szerepet játszanak a fitopatogén organizmusok elleni védelemben. Sziderofórok termelése révén megkötik a talaj vastartalmát, amely így elérhetetlenné válik a patogének számára (szubsztrát kompetíció). Antibiotikumok (gombák ellen), hidrogén-cianid vagy gomba sejtfalbontó enzimek (kitináz, b-1,3 glükanáz) szintézise révén közvetlenül is kifejthetnek gátló hatást. Egyes fajok képesek a *Fusarium* gombák által termelt toxinok lebontására és így az azok okozta tünetek csökkentésére is. A PGPR szerepel az indukált szisztémás rezisztencia (ISR) kialakításában is. Az ISR egy lokális patogén infekció után a szalicilsav közvetítésével az egész növényre kiterjedő immunválasz, amely a későbbi fertőzés elleni védettséget emeli és annak tüneteit csökkenti. A PGPR által indukált ISR elicitorai természetesen mások, mint patogének esetén, mivel itt nem történik sejtlízis. Szalicilsav helyett az etilén és jázmonsav kap szerepet a jelátadásban.

A mezőgazdasági gyakorlatban az egyik leginkább alkalmazott PGPR faj a *Bacillus subtilis*, amely antibiotikum termelése és kórtünet-csökkentő hatása miatt jelentős és számos gombapatogén ellen emeli a növény védettségét. A *Bacillus megaterium* foszfát-szolubilizáló, auxin- , sziderofór-, és antibiotikum-termelő képessége jelentős.

12.1.2. Nitrogénkötő endoszimbiózis a pillangósokban

Az egyik legősibb és a pillangósok gyakorisága és fajgazdagsága folytán az egyik legjelentősebb növény-mikroba szimbiózis, amely a biológiai N-fixáció alkalmazásával alapvetően befolyásolta az ökoszisztéma N-egyenlegét. A szimbiózis kialakulása során speciális szervek, **gyökérgümők** (noduluszok) képződnek a gyökéren (12.1. ábra), amelyekben a szimbionta baktériumok, ún. bakteroidok találhatóak. Kialakulása egy szorosan szabályozott kétoldalú folyamat, amelynek során számos növényi és bakteriális gén expresszálódik.



XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

12.1. ábra Indeterminált növekedésű gyökérgümők vöröshere (*Trifolium pratense*) gyökéren. **A:** Oldalgyökerekről elágazó gümők, középső harmadukban a Lb pirosas árnyalatával. **B:** Hosszában keresztbevágott gümő zónái: (a) merisztéma, (b) infekciós zóna, (c) nitrogénfixáció zónája, (d) szeneszcencia zónája. A méretvonalak hossza 1 mm. Parádi István felvételei

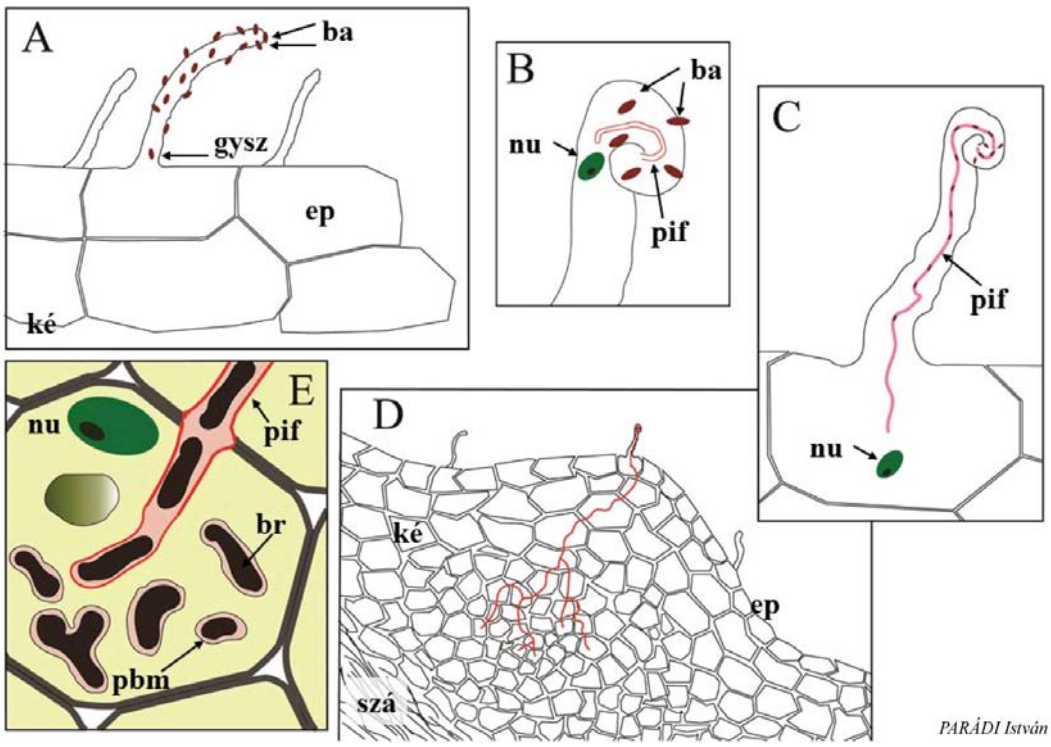
12.1.2.1. Bakteriális diverzitás

A pillangósok több, mint 90%-a képezi ezt a szimbiózist a baktériumoknak egy nem monofiletikus (nem közös őssel rendelkező) csoportjával. A gümőképző Gram-negatív baktériumok többsége az alfa-proteobaktériumok közé tartozó Rhizobiales rend tagja (pl. *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* és *Sinorhizobium* nemzetségek), amely filogenetikai szempontból polifiletikus, szervező ereje csak a gümőképzésre való képesség. A gümőképző fajok egy kisebb része a béta-proteobaktériumok közé tartozik (pl. *Burkholderia*).

12.1.2.2. A gyökérgümő kialakulása

A gyökérgümő kialakulása a leginkább tanulmányozott esetben (borsó, lóhere, lucerna) egy preinfekciós fázissal kezdődik (12.2. /A ábra), amelynek során a baktériumok felismerik a megfelelő gazdanövényt és a gyökérfelszínt kolonizálják. A felismerési folyamatot a növény által kibocsátott kemotaktikus szignálok, flavonoidok és betainok segítik elő. A következő Hac (*Hair curling*) fázisban a bakteriális szignálok hatására a gyökérszőrök erősen deformálódnak és meggörbülnek (12.2. /B ábra). Az Itf (*Infection thread formation*) szakaszban a gyökérszőrök görbületeiben a baktériumok leendő belépési pontján a sejtfal elvékonyodik és a plazmamembrán invaginációjával kialakul az ún. **preinfekciós fonal (PIF)**, amely az invagináció hosszanti továbbterjedésével bevezeti a baktériumokat a gyökérszövet belsejébe (12.2. /C-D ábra), mindig a csúcsi részén növekedve Golgi-eredetű szekréciós vezikulák fúziójával. A PIF-et egy növény-eredetű perimikrobiális membrán határolja, meggátolva a baktériumok közvetlen érintkezését a citoplazmával, belső szerkezetét pedig egy mikrotubuláris hálózat biztosítja. A PIF-en belül a baktériumok intercelluláris (sejtközötti) helyzetűek. A PIF kialakulásával párhuzamosan a kéregsejtek dedifferenciálódása és proliferációja a nodulusz hisztogenezis primordiális fázisát jelenti a Ccd (*Cortical cell division*) szakaszban. A nodulusz kialakulása során az Ntd (*Noduletissue differentiation*) fázisban kialakulnak a nodulusz különböző szövettípusai, így a kéreg-, szállító-, és központi N_2-fixáló szövetek. A fejlődő nodulusz primordiumot a PIF-en keresztül érik el a baktériumok, ahol megtörténik a baktériumok bejutása a növényi citoplazmába egy endocitózis-jellegű folyamat során a Bar (*Bacterial release*) szakaszban (12.2. /E ábra). A nodulusz területén sem érintkezik tehát a baktérium a citoplazmával, mert intracellulárisan a PIF membránjából, ER és Golgi vezikulákból felépített ún. **peribakteroid membrán (PBM)** veszi őket körül. Az így kialakult képletek az ún. **szimbioszómák**, amelyekben a Bad fázisban (*Bacteroid differentiation*) a baktériumok bakteroidokká differenciálódnak. A **bakteroidok** mérete többszöröse a szabadon élő baktériumoknak és alakjuk is megváltozhat (pl. X, vagy Y alakúak lesznek). A bakteroidokat tartalmazó növényi sejt is átalakuláson megy keresztül: a PBM képzésében és a bioszintetikus folyamatokban résztvevő belső membránszerkezetek mennyisége megemelkedik és számos új fehérje szintézise indul be, például a bakteriális nitrogenáz ellátására és a N-asszimilációra. A fentebb vázolt szövettani fejlődés a komplexebb felépítésű ún. indeterminált noduluszokra jellemző, amelyekben egy nem kolonizált apikális merisztéma is kialakul. Egyes pillangósok (szója, török paszulybab, szarvaskerep) esetén a gyökérgümők növekedése determinált, a merisztéma csak pár napig létezik, majd a nodulusz növekedése meg is áll. A szövettani elkülönülés itt nem alakul ki a gümő belsejében, a fertőzött sejtek keverten találhatóak a transzportot bonyolító nem kolonizált sejtekkel.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



12.2. ábra Gyökérszőr kolonizációja *Rhizobium* baktériumokkal és a gyökérgümő kialakulása. **A:** A baktériumok (**ba**) a felszínt kolonizálva a gyökérszőrökhöz (**gysz**) tapadnak. **B:** A gyökérszőr vége meggörbül és kialakul a preinfekciós fonal (**pif**), amely a sejtmagot (**nu**) követve növekszik a gyökér felé. **C:** A növekedő preinfekciós fonal eléri az epidermisz (**ep**) alját. **D:** A preinfekciós fonal elágazik a kéreg (**ké**) osztódó sejtjei által képzett nodulusz primordium területén. A szállítószövetbe (**szá**) nem nő. **E:** A preinfekciós fonalon keresztül bejutnak a baktériumok a nodulusz sejtjeinek citoplazmájába, ahol peribakteroid membránnal (**pbm**) körülvett bakteroidokká (**br**), azaz szimbioszómákká alakulnak.

12.1.2.3. Genetikai szabályozás

A gazdanövény alapvető érdeke, hogy szabályozza a gyökérgümői mennyiségét, hiszen ezek létrehozása és működése komoly energia-befektetést igényel. A szabályozás alapvető befolyásolói a környezeti tényezők (a N ellátás mellett egyéb stresszfaktorok, pl. szárazság, hőmérséklet, stb.), megvalósításában pedig a növényi hormonok (megemelkedett citokinin/auxin arány) , szimbiotikus szignál receptorok, valamint a noduláció autoregulációja játszanak szerepet. A szimbiózis szabályozása genetikailag egy rendkívül összetett kétirányú folyamat, amelyben mindkét fél részéről számos gén vesz részt. A növényi gének közül a *Sym* és nodulin (*Nod*) gének emelhetőek ki. A több, mint 50 tagból álló *Sym* gének a szimbiotikus struktúrák kialakulásának és az infekciónak a folyamatában, valamint a baktériumok bakteroidokká való transzformációjában és azok szabályozásában vesznek részt. Számos mutáns törzs azonosítása után sikerült nagyobbrészt felderíteni az adott gének bekapcsolásának sorrendjét és feltárni szerepüket a mutánsok fenotípusának vizsgálatával. Indukálódásuk a bakteriális génekkel összekapcsolva, a „gén a génnel szemben” (*gene for gene*) elmélet szerint történik. A *Nod* gének a *Sym* gének hatására indukálódnak. Szerepük viszont kevésbé ismert, bizonyos esetekben az újonnan kialakuló organellumok (PIF, szimbioszóma), illetve szimbiotikus struktúrák szerkezeti elemeiként azonosították őket.

A pillangósok és endoszimbiontáik közötti kapcsolat erősen specifikus, azaz egy adott baktériumtörzs csak a növények egy szigorúan behatárolt körében képes kolonizálni (cross-inoculation groups) és fordítva. A specificitás egymás szignáljainak kölcsönös felismerésével függ össze. A bakteriális szimbiotikus gének a szimbiotikus plazmidokon (p*Sym*) lokalizáltak, amelyek a specificitást is meghatározzák. A 80-as évek elején bizonyították be, hogy egy adott pillangóst (afgán borsó) kolonizáló *Rhizobium* fajból izolált plazmiddal transzformált európai *Rhizobium* törzs képessé vált ezen növényben gümők létrehozására. A rhizobiális nodulációs (*nod*) gének transzkripciós szintű szabályozása gazdafüggő és egy, a Rhizobiaceae családban erősen konzervált szabályozó szakasz, az ún. „*nod* box” hatása alatt áll, amely a nodulációs génektől „upstream” irányban helyezkedik el.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

A *nod* gének egy része (*nodA, nodB, nodC*) minden vizsgált fajban megtalálható, szerkezetileg és működésükben igen hasonlóak. A *nod* gének többsége már jóval specifikusabb, egy-egy fajra jellemző, vagy ha több fajban jelen is vannak, funkcionálisan nem azonosak. Ezeket összefoglalóan gazdaspecifikus *nod* géneknek (*nodP*, *nodQ*, *nodH*, stb.) nevezik, mert meghatározzák, hogy az adott baktérium mely gazdanövényeket képes kolonizálni. A *nod* gének kizárólag a megfelelő gazdanövény hatására expresszálódnak, így szabadon élő baktériumokban nem. A *nodD* gének kivételt képeznek ez alól, mert ezek konstitutívan expresszált transzkripciós regulátorok. A nodD fehérjék a *nod* boxhoz kötődve a gazdanövényből származó specifikus szignál (flavonoidok) hatására aktiválják a többi *nod* gén expresszióját. A *nod* gének indukciója révén a kolonizáció korai fázisában bakteriális szignál molekulák termelődnek, az ún. Nod faktorok, amelyek specifikus receptorokon való kötődésükkel a baktériumok kolonizációját, a gyökérszőrök görbülését és a gyökérgümő kialakulását inicializálják a növényben. A szignáltranszdukció folyamata során a Nod faktorok specifikus receptoron való kötődése egy kálcium oszcillációs folyamatot indukál az epidermisz sejtben. A Ca^{2+} szint változását Ca^{2+}/kalmodulin dependens fehérjekináz (CaMK) érzékeli, amely a CYCLOPS nevű fehérjével asszociált. Ezt követően egy transzkripciós faktorokból álló fehérjekomplex a Nod faktor által indukálódó gének promotereihez kötve indítja el a transzkripciót. A szignál transzdukció folyamata az ún. **szimbiotikus útvonal**, amely nagyon sok ponton közös az arbuszkuláris mikorrhiza hasonló folyamatával. A Nod faktorok β-1,4-kötésekkel kapcsolódó lipokitin-oligoszacharidok, amelyek alapvázát a *nod*ABC gének termékei építik fel, specifikus jellemzőiket viszont már a gazdaspecifikus *nod* gének végzik. A zsírsav oldallánc a membránokon való átjutást biztosítja. A szimbiotikus kapcsolat specificitása tehát egyrészt a növényi szignálanyagok (flavonoidok), másrészt és elsősorban a Nod faktorok specificitásának eredője.

A szimbiotikus rendszerek (mikorrhiza is) szoros összehangoltsága a gének működésének hierarchikus szervezőelve és a gazdanövény és szimbiontája közötti kölcsönös genetikai szabályozási kapcsolat miatt sokkal magasabb fokú, mint a parazita rendszerekben. A szimbiotikus géneknek a növényi génműködés más rendszereiben, különösen a patogének elleni védelemben megtalálhatóak a homológjai, ezért minden bizonnyal ezen rendszerekből jutottak be a szimbiotikus program rendszerébe is az evolúció során.

12.1.2.4. A gyökérgümő működése

A gyökérgümőben folyó alapvető biokémiai folyamat a következő:

$$N_2 + 8e^- + 8H^+ + 16\ ATP = 2NH_3 + H_2 + 16\ ADP + 16\ Pi$$

A légköri nitrogén megkötését a bakteroidok **nitrogenáz enzimkomplexe** végzi, amely egy hat polipeptidből és kettő kofaktorból álló összetett enzim. Szintézise a baktériumban történik, növényi gének által regulálva. Alapvető tulajdonsága az oxigénérzékenysége, azaz csak anaerob körülmények között képes a légköri nitrogén redukálására. Működésének nagy energiaigénye viszont épp az O_2-t fogyasztó légzéssel, vagy termelő fotoszintézissel elégíthető ki. A növény ezért egy mikroaerob környezetet alakít ki a bakteroidokat tartalmazó sejtekben, hogy a citoplazma lecsökkentett O_2 koncentrációja elegendő legyen a növényi sejt és a bakteroidok respirációjához, de ne gátolja a nitrogenázt. Ennek érdekében a növény fizikai gátat épít ki a bakteroidok körül az O_2 diffúzió ellen: szorosan elhelyezkedő vastagfalú sejtek sorát a gümő parenchima külső szöveteiben, amelyek a belső, fertőzött részeket elzárják. A biokémiai gátat az ún. **leghemoglobin (Lb)** jelenti, amely megköti az oxigént és a bakteroidok felszínéhez szállítja. Az Lb a citoplazmában található, szintézise közös, mert a növény állítja elő a globin részt, a baktérium a hemet. A noduluszok rózsaszín árnyalata is a Lb jelenlétének köszönhető.

A fotoszintézis termékeinek nagyjából 30 %-át használják fel a gyökérgümők, amely körülbelül felerészben a nitrogenáz ATP igénye és a nodulusz felépítése miatt jelentkezik (ez a noduláció nettó költsége). A fixált N asszimilációjára és hajtásba történő transzportjára felhasznált szénhidrátokat a növény már visszanyeri. A kolonizált növényi sejt négy C-atomos dikarboxilátokkal látja el a bakteroidot, amely a szabadon élő baktériumokkal ellentétben hexózokat nem metabolizál. A bakteroid citromsav-ciklusába belépve ezek ATP termeléshez vezetnek, amelyet a nitrogenáz használ fel és NH_4^+ keletkezik, mely kijut a növényi citoplazmába. Az ammónium asszimilációja már a növényi sejt mitokondriumai és plasztiszai közreműködésével történik. A nitrogenázról és az ammónium asszimilációjáról bővebben a 6. fejezetben van szó.

Amennyiben magas a nitrát szint a gyökerek környezetében, nem alakulnak ki gümők, a flavonoidok szintézisét pedig éppen a nitrogénhiány serkenti. A nitrát közvetlenül gátolja a nitrogén-fixáció enzimeit (pl. nitrogenázhoz, Lb-hoz kötve), a nitrátreduktáz működése pedig elvonja a szénhidrátokat a nitrogenáztól. A növény számára rendkívül fontos, hogy az igen nagy energiaigényű nitrogénfixáló rendszerek csak nitrogénhiányos állapotban épüljenek ki, mert a nitrát közvetlen felvétele jóval „olcsóbb” megoldás számukra.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

12.1.3. Aktinorhizás szimbiózis

Az Actinobacteria törzs Actinomycetales rendjébe tartozó *Frankia* génusz tagjai fonalas szerveződésű baktériumok, amelyeket eredetileg gombának hittek (erre utal a rend neve is). Egyetlen faja a *Frankia alni*, amelynek számtalan törzse specifikus nitrogénkötő szimbiózist képez az összes éger fajjal (*Alnus* sp.) a Betulaceae családból, valamint a Casuarinaceae (pl. *Casuarina* sp.– kazuárfa), Coriariaceae, Datiscaceae, Elaeagnaceae (pl. *Eleagnus* sp.– ezüstfa, *Hippophae* sp.– homoktövis), Myriaceae, Rhamnaceae és Rosaceae család egyes fajaival. Elterjedésük a nagy hatékonyságú nitrogénkötő rendszernek köszönhetően elsősorban gyenge vagy oxigénhiányos talajokon jellemző, a szimbiózisban résztvevő növények általában pionír fajok. A fertőzés történhet intracellulárisan a gyökérszőrön át, vagy intercellulárisan az epidermisz és kortikális sejtek között. Minden esetben az aktinorhizás növények indeterminált növekedésű gyökérgümőket, ún. aktinorhizás noduluszokat képeznek, amelyek az oldalgyökerekhez hasonló, több lebenyből álló képletek. A kolonizált sejtek fokozódó auxintermelése hatására a kolonizált oldalgyökerek nagy sűrűségben keletkeznek. A növényben a *Rhizobium*-szimbiózishoz hasonló gének aktiválódnak (leghemoglobin, nodulinok).

12.2. Gomba-gyökér szimbiózis: a mikorrhiza

A mindkét félnek kölcsönösen előnyös, azaz mutualista típusú növény-mikroba szimbiózis leginkább elterjedt formája a mikorrhiza, amely természetes körülmények között a növények túlnyomó többségére jellemző. Mikorrhiza alatt a növényi gyökér, vagy egyéb tápanyagfelvevő szerv és a gomba rendkívül szoros morfológiai és fiziológiai kapcsolatát értjük. A görög eredetű mikorrhiza kifejezést Albert Bernhard Frank vezette be 1885-ben, jelentése „gombagyökér”. Alapvető jellegzetessége, hogy jellegzetes anatómiai változásokkal jár a gyökérben, legfőképpen egy tápanyagátadó felület kialakulásával. A partnerek sejtjei között a legtöbb esetben tápanyagtranszport folyik, a növény ásványi tápanyagokat kap a gyökéren kívüli micéliumból és a gombát szénvegyületekkel látja el. Bizonyos esetekben a növény nem kap tápanyagokat, a gomba jelenléte egyéb módokon jelenthet adaptív előnyöket, például stresszhatások elleni védelem (szárazság, kórokozók).

12.2.1. Az arbuszkuláris mikorrhiza (AM)

Az arbuszkuláris mikorrhiza (AM) a legelterjedtebb és legősibb mikorrhizatípus. Nevét a két partner által közösen létrehozott speciális intracelluláris tápanyagátadó képletről, az arbuszkulumról kapta. Az AM jellegzetes képletei általában csak festés után, mikroszkóppal vizsgálhatók, szemmel nem láthatók, mint például az ektomikorrhiza esetén. Az AM gombák legkorábbi spóraleletei –melyeket legalább 460 millió évesnek tartanak– az ordoviciumból származnak. A kora devonból származó (400 millió éves) fosszíliákban pedig a mai arbuszkulumokkal azonos jellegű struktúrákat találtak. A leletek alapján igen valószínű, hogy az AM képzés kulcsszerepet játszott a növények szárazföldre lépésében.

12.2.1.1. Gazdanövények

Az AM annyira elterjedt a növényvilágban, hogy könnyebb azon növénycsaládokat felsorolni, amelyekben nem található. A zárvatermő fajok 85-90 %-a tipikusan arbuszkuláris mikorrhizát képző családok tagjai.Ezek a fajok főként lágyszárúak és trópusi fák (pl. *Araucaria*, *Podocarpus*, *Agathis*), a mérsékeltövi fásszárúak közül sok gazdaságilag értékes faj (pl. *Acer*, *Celtis, Citrus, Fraxinus*, *Olea, Robinia* és a Rosaceae család tagjai), ezenkívül a legtöbb nyitvatermő (a Pinaceae kivételével), a harasztok és a májmohák. Az obligát mikotróf növények szinte minden környezeti feltétel mellett mikorrhizáltak, azaz a gyökereiket kolonizálják AM gombák. A pillangósvirágúak (Fabaceae) különösen aktív AM képzők, feltehetően a jó nitrogénellátásuk miatt magasabb foszforigényük miatt is, amit az AM képzés révén tudnak biztosítani. Más fajok fakultatív mikotrófok, mikorrhizát csak megfelelő esetben (alacsony tápanyagszintek esetén, vagy extrém környezeti feltételek mellett, pl. nehézfém-, vagy sóstressz) képeznek. Léteznek ugyanakkor olyan nem mikotróf lágyszárúak, melyeknél a mikorrhizaképzés nagyon kismértékű, vagy teljesen hiányzik (pl. Brassicaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Cyperaceae, Juncaceae, Polygonaceae, Proteaceae családok). A növénybiológiai kutatások legjobban ismert tesztnövénye, az *Arabidopsis thaliana* is ezen fajok közé tartozik. Az AM jobbára a kevés szerves anyagot tartalmazó, ásványos talajokban domináns és jellemző a nagy fajdiverzitással bíró növénytársulásokra (trópusi esőerdő, mérsékeltövi füves sztyepp). Valószínűleg az AM képzése egy nagyon ősi tulajdonsága a növényeknek, a nem mikotrófok és egyéb mikorrhizát képzők másodlagos jellegek lehetnek, később elágazott növénycsaládokban.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

12.2.1.2. Gombapartnerek

Az első arbuszkuláris mikorrhizagomba génuszt (*Glomus*) a 19. században (1844) írták le. Egészen a múlt század elejéig csak a talaj felső rétegében talált spóracsokrok ("sporokarpiumok") voltak ismertek a *Glomus* nemzetség fajairól. A 19. század végén (1897) már felfedezték a gyökérben az arbuszkulumokat és vezikulumokat, amelyekről – az AM szerepének felismerésével párhuzamosan – a 20. század elejére bebizonyosodott, hogy szimbiotikus struktúrák. A húszas években sikerült igazolni, hogy e szimbiózisban a növényeket az akkor még Endogonaceae családba sorolt gombafajok kolonizálják. Az első talajkultúrás vizsgálatokat és a spórák nedves szitálással való első izolálását követően a kutatások kiszélesedtek és a növények nagy részénél igazolták az arbuszkuláris mikorrhiza képzésének lehetőségét.

Az AM gombafajok obligát, aerob szimbionták, táptalajon csak korlátozott mértékben nőnek, szaprobionta aktivitásuk nincs vagy csak nagyon csekély mértékű (ellentétben például az ektomikorrhizát képző gombákkal). Önálló (axénikus) nevelésük nem lehetséges, így izolálásuk és fenntartásuk csak speciális módszerekkel, szaporításuk a gazdanövénnyel együtt nevelve lehetséges.

Az AM gombák spórái általában nagyok (50 - 500 µm), magas lipidtartalommal és vastag, többrétegű, jellegzetes sejtfallal bírnak, ami morfológiai meghatározásuk alapja (12. 3. ábra). Néhány faj pár mm-es, vagy 1-2 cm nagyságú termőtest létrehozására is képes. Hifáik cönocitikusak és spóráik nagyszámú (többszáz - több tízezer) sejtmagot tartalmaznak, amelyek valószínűleg minden esetben haploidok. A spórák többnyire a talajbeli, extraradikális hifákon képződnek (12.4. ábra), de egyes fajok esetén előfordul a gyökérben történő, intraradikális spóraképzés is. Genomméretük változatos: a többi gombához képest viszonylag alacsony 16,5 Mb-tól akár 1058,4 Mb-ig terjed, amelynek oka főleg a repetitív szekvenciák nagy mennyisége lehet. Genetikai diverzitásuk magasfokú, egyazon spóra különböző ITS régiókat is tartalmazhat, de az még nem világos, hogy a sejtmagok különböznek-e, vagy egy sejtmagon belül találhatóak a variációk.

12. 3. ábra AM gombaspóra (*Glomus* sp.). Parádi István felvétele

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

12.4. ábra AM gomba (*Rhizophagus irregularis*) spóracsokor, sárgarépa (*Daucus carota*) gyökérkultúrában. Parádi István felvétele

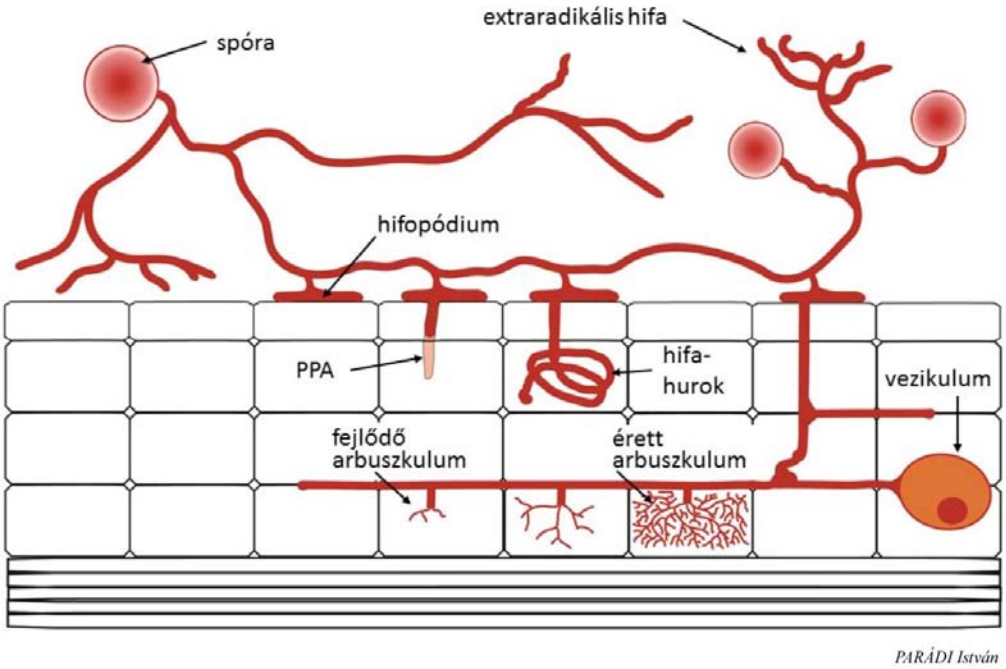
A leírt AM gombafajok száma kevés, ezidáig körülbelül csupán 230 fajt izoláltak és határoztak meg, viszont rendkívül elterjedtek és a leggyakoribb talajgombák közé tartoznak. A rizoszférából izolált spórák alapján kapott fajspektrum általában jelentősen eltér a gyökerekből közvetlenül, molekuláris módszerekkel azonosított gombadiverzitástól, ezért változatosságuk nagyobb lehet. Szeptálatlan hifáik miatt sokáig a járomspórás gombák (Zygomycota) közé osztották őket. A legutóbbi molekuláris eredmények alapján azonban már a monofiletikus eredetű Glomeromycota törzsbe, ezen belül pedig négy rendbe (Glomerales, Diversisporales, és két régebben elágazott: Paraglomerales és Aschaeosporales) sorolják ezen gombákat. Az Aschaeosporales rendbe tartozó, talajfelszínen élő 1-2 mm nagyságú, endoszimbionta *Nostoc* kékbaktériumokkal szimbiózist képző *Geosiphon pyriformis* az AM gombák egyik legősibb képviselője lehet, a gyökerek kolonizációja előtti időkből. Az AM gombák esetén a faj fogalmának értelmezése nem egyszerű, lévén aszexuális, klonális szervezetek, egy "fajon" belül pedig magasszintű genetikai / funkcionális diverzitással bírnak. Egyes nemzetségekben a spórák baktériumszerű szervezeteket (bacteria-like organisms, BLOs) tartalmaznak, amelyek többsége a *Burkholderia* nemzetséghez tartozik és nitrogén-fixációs génekkel is rendelkeznek.

Az AM esetén gomba-növény specificitás nincs, vagy nagyon alacsony mértékű: a fent említett kisszámú faj (valamint a nem leírt, esetleg spórát nem képző vagy nem izolálható fajok) élnek együtt a növényfajok túlnyomó részével. Egyazon növényt több gomba is kolonizálhat, illetve egyazon gomba több növényben is jelen lehet. Magasabb fokú specificitást csak mikoheterotróf növényeket (*Arachnites, Voyria, Voyriella*) kolonizáló gombafajok esetén figyeltek meg. A növényfajok erős befolyással vannak az AM gombák közösségeinek fajösszetételére, az AM gombák megfelelő (funkcionális) diverzitása pedig alapjaiban határozza meg a növényi életközösségek változatosságát.

12.2.1.3. Az arbuszkuláris mikorrhiza kialakulása és struktúrális jellegzetességei

A szimbiózis kialakulása egy genetikailag koordinált felismerési folyamat eredménye, amelynek során mind a rizoszférában, mind a gyökér felületén és belsejében szinkronizált jelátviteli folyamatok játszódnak le a partnerek között. Mivel a mikorrhiza képzésére a növények túlnyomó többsége képes, alapvető és általános molekuláris és genetikai jellegzetességek szolgálhatnak hátteréül. Az AM kialakulása három lényeges szakaszra különíthető el (12.5. ábra).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/



12.5. ábra AM kialakulásának lépései a spóracsírázástól az arbuszkulumképzésig

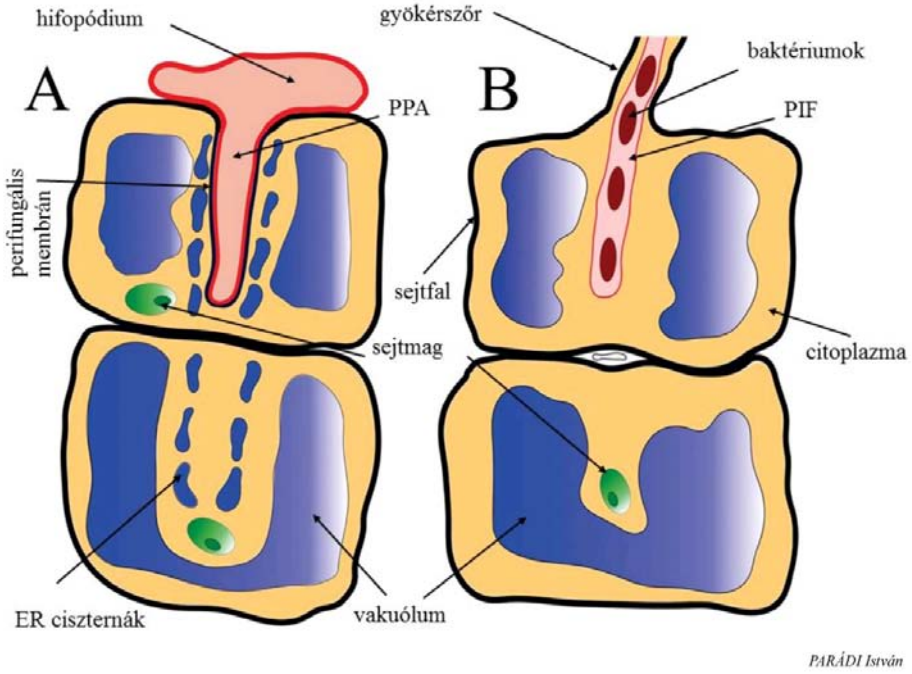
A **prekolonizációs fázis** a gombaspóra csírázásától a gazdával való fizikai kontaktusig tart. A gyökér kolonizációjának forrása (propagulum) lehet maga a spóra, vagy egyéb kolonizált gyökérdarab, illetve talajbeli hifa. A gyökerek kolonizációja a természetben azonban többnyire nem a lassan csírázó spórákból indul ki, hanem a talajban már meglévő és kiterjedt hálózatot alkotó hifarendszerből (extraradikális hifahálózat), amely a kolonizált gyökereket is magába foglalja. Ezen micéliumhálózat integritása biztosítja azt, hogy az újonnan csírázó növényt rögtön kolonizálhassák az adott talajhoz adaptált és a növények számára előnyöket biztosító, változatos AM gombaközösség tagjai. A hifarendszer sérülése (pl. szántás, durva talajművelés, erózió) és a modern mezőgazdaságban alkalmazott kémiai hatóanyagok (elsősorban a fungicidek) elpusztítják ezeket a természetes közösségeket, amelyek csak nagyon hosszú idő alatt épülnek vissza.

Az AM gombaspórák növény jelenléte nélkül is kicsírázhatnak, de csak korlátozott mértékben növekednek, majd a hifáik visszahúzódnak. Hasonlóan a *Rhizobium*-szimbiózishoz, az arbuszkuláris mikorrhiza kialakulása esetén is fontos szerepet játszanak a növény által termelt szignálanyagok: oldott flavonolok, flavonoidok, izoflavonoidok és egyes illékony anyagok, például a CO_2. Ezen vegyületek serkenthetik a spóracsírázást, a hifanövekedést, illetve a hifaelágazódás mértékét, valamint a növény által kiválasztott cukroknak és aminosavaknak is van a gomba számára serkentő és vonzó hatása. Az AM kialakulása azonban alapvetően mégis a gyökér által kibocsátott ún. szeszkviterpén **sztrigolaktonok**on múlik. Ezen molekulák életideje nagyon rövid, gyorsan bomlanak a talajban, ezért egy erős koncentrációgrádienst hoznak létre a rizoszférában, világosan jelezve az irányt a gyökér felszíne felé. Több évtizede ismerik már ezt a molekulát, amelyik a *Striga* nevű parazita növényi génusz csírázását indukálja (ebben az esetben ez tehát az AM szignál egy másodlagos hasznosítása). A gomba a hifanövekedés gyorsításával válaszol a sztrigolaktonok jelenlétére. A random növekedés a gyökér felé irányul, a hifa sokszorosan elágazik, majd a gyökér felszínén egy jellegzetes, sok vékony oldalsó elágazással bíró képletet hoz létre, amelyekből majd kiindul a kolonizáció. Eközben a gomba a *Rhizobium* fajok Nod faktoraihoz hasonlóan, ún. Myc faktorokat bocsát ki, amelyek kálciumszint oszcillációkat okoznak az epidermisz sejtjeiben és a növény szimbiotikus génjeit indukálják.

A **penetrációs fázis** során a gyökér felületével érintkező hifa adott helyen ún **hifopódium**ot képez, amely egy 20-40 μm hosszú, lapos képlet (12.8 /C ábra). A növény eközben előkészíti a gomba behatolásának helyét a hifopódium alatt történő sejtfalvastagodással és az ún. **prepenetrációs apparátus (PPA)** kialakításával, amely a *Rhizobium*-szimbiózis preinfekciós fonalához hasonló (12.6. ábra). **A növény tehát nem passzív elszenvedője, hanem aktív résztvevője és szabályozója a szimbiózis kialakításának.** A PPA kialakulása előtt az epidermális sejt sejtmagja a gomba majdani belépési pontjához vándorol, majd a PPA felépítése során azelőtt mozog, kijelölve annak útját a sejten keresztül. A PPA egy vastag citoplazmahíd a sejt vakuólumán keresztül, amelyet mikrotubuláris hálózat, mikrofilamentumok és az endoplazmatikus retikulum ciszternái építenek fel. Amint a PPA kialakult és

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

utat nyitott a sejten keresztül, a hifopódiumból kiinduló (egyik) infekciós hifa be tud lépni abba, hogy tovább hatoljon a gyökérszövetbe. A sejtfalon való átlépésnél valószínűleg sejtfalbontó enzimeket használ (pektináz, celluláz). A PPA által nyitott csatorna nem intracelluláris, azt hosszában a sejtmembránnal folytonos ún. határolja. A gyökérszövet epi-, és hipodermális rétegében a hifák növekedése még erősen korlátozott.



12.6. ábra A: az AM prepenetrációs apparátusa (PPA) és B: a *Rhizobium*-szimbiózis preinfekciós fonala (PIF). Összehasonlítás

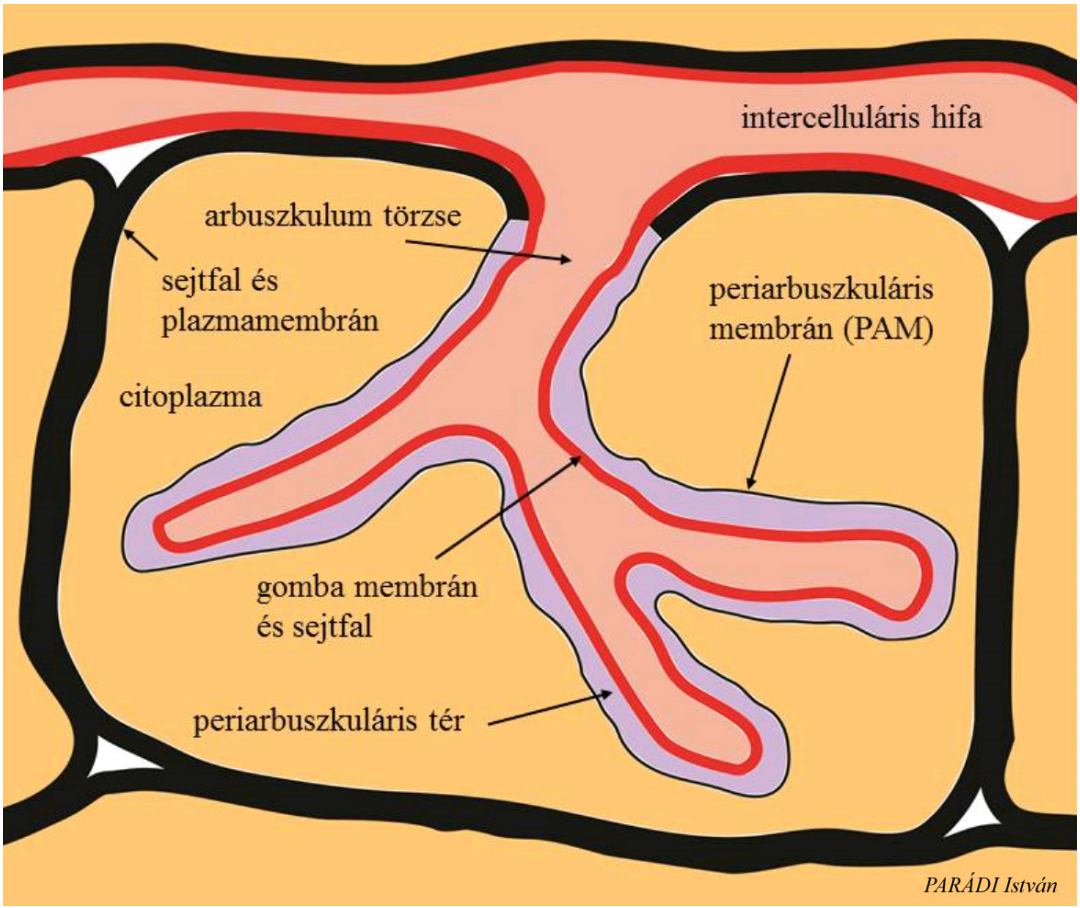
A **szimbiotikus fázis**alatt a gomba már behatol a kéreg parenchimatikus részeibe is, ahol a micélium képződése felgyorsul és intercellulárisan gazdagon elágazik (12.8 /A-B. ábra). Az így létrejött ún. "kolonizációs egység" növekedése longitudinálisan mindkét irányban megindul, miközben intracelluláris hifahurkokat és arbuszkulumokat, valamint vezikulumokat képezhet. A **hifahurok** ("coil") egy csavarodott hifaköteg, funkciója valószínűleg – az intercelluláris hifákhoz hasonlóan – a szénhidrát-átadás. Az **arbuszkulum** (görög eredetű szó, jelentése "fácska") a foszfátátadás fő helye, egyben a két fél legszorosabb kapcsolata. Az arbuszkulumot – amelynek térbeli felépítése leginkább egy szőlőfürtre emlékeztet – a partnerek együttesen alakítják ki úgy, hogy a membránok intergritása eközben nem sérül, a hifa végig az apoplasztban marad. A sejtbe belépő gombahifa sokszorosan dichotómikusan elágazik, létrehozva az arbuszkulum nagy felülettel bíró elágazási struktúráját (12.7. ábra, 12.8 /E-F ábra).

Az anyagátadási felületet a növényi plazmamembránnal folytonos **periarbuszkuláris membrán (PAM)**, a periarbuszkuláris tér (hasonló az elsődleges sejtfalhoz, amorf struktúrájú, ún. interfaciális mátrix) és a gomba membránja képezik. Az arbuszkulum sejtbe lépő vastagabb, elágazás előtti részét az arbuszkulum törzsének nevezik. Jellemző rá számos mikorrhiza-specifikus fehérje jelenléte, például a PAM tartalmazza a PT4 foszfát-transzporter gént, amely a gomba által átadott foszfát (Pi) növénybe juttatásáért felelős, valamint H^+ ATP-ázokat, amelyek a periarbuszkuláris teret savanyítják, ezenkívül aquaporinokat. Az arbuszkulumok a talaj-eredetű, gomba által szállított tápanyagok (P, Zn) átadásának fő helyei. Bonyolult szerkezetük az élővilág egyik leghatékonyabb tápanyagátadási felületének létrehozásához járul hozzá.

A növényi sejt az arbuszkulum képzésekor nagy változásokon esik át, megnő a citoplazma mérete és az organellumok száma, fragmentálódik a vakuólum és dekondenzálódik a kromatinállomány, növelve a sejtmag méretét, amely a sejt széléről egy központi helyre vándorol. A plasztiszok felszaporodnak és hálózatot alkotnak az arbuszkulum körül. Az arbuszkulumok búza esetén két-három nap alatt jönnek létre és átlagosan hét-nyolc napig léteznek. Lassan növő fásszárúakban azonban az arbuszkulum ciklusa jóval hosszabb is lehet és morfológiájukat tekintve maguk az arbuszkulumok is robosztusabbak. Az arbuszkulum elöregedése és felszívódása után a növényi sejt visszaalakul és újabb arbuszkulum képzésére lesz képes. Az arbuszkulumok rövid életideje és gyors fejlődési ciklusa, a képzésük nagy energiaigénye ellenére hasznos a növény számára, ugyanis valószínűleg így képes

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

szelektálni a jól működő (sok foszfátot nyújtó) és kevésbé hatékony képletek között, valamint a különböző kolonizáló gombák között is folyamatos versenyhelyzetet teremt.



12.7. ábra AM arbuszkulum szerkezete

A hifák idősödése során inter- vagy intracelluláris, lipidekben és foszfátban gazdag raktározó szervek, ún. **vezikulumok** jöhetnek létre (12.8 /D ábra). Alakjuk változó, olykor ritkásan találhatók, máskor teljesen kitöltik a gyökér egy részét. Magas P-ellátás vagy alacsony fényintenzitás mellett mind a vezikulumok, mind az arbuszkulumok és a kolonizációs pontok száma csökken. Egyes AM gombagénuszok nem képeznek vezikulumot, ezért a régebben használatos VAM (vezikuláris-arbuszkuláris mikorrhiza) helyett újabban az AM (arbuszkuláris mikorrhiza) névvel illetik ezt a szimbiózis).

A gomba biomasszája a gyökér szárazanyag-tartalmának 20%-át is elérheti. A növényen belüli képleteken túl jelentős a szerepe az azokkal szoros összeköttetésben álló extraradikális (externális, vagy extramátrikális) hifáknak, amelyek jelentős távolságra elérhetnek a gyökérfelszíntől és behálózzák a környező talajt, a tradicionálisan rizoszférának tartott régión túl is. Szerepük alapvetően a tápanyagok felvétele és a gyökér felé továbbítása. A sokszorosan elágazó, egyre vékonyodó hifák képesek a talaj legkisebb pórusaiba is behatolni és elsősorban ott gyakoribbak, ahol a tápanyagok mineralizációja folyik (pl. bomló szerves anyagok). Az extraradikális hifák különböző növényegyedek között összeköttetést is létesíthetnek, bár növények közötti hifák által közvetített tápanyagtranszportot nem sikerült kimutatni.

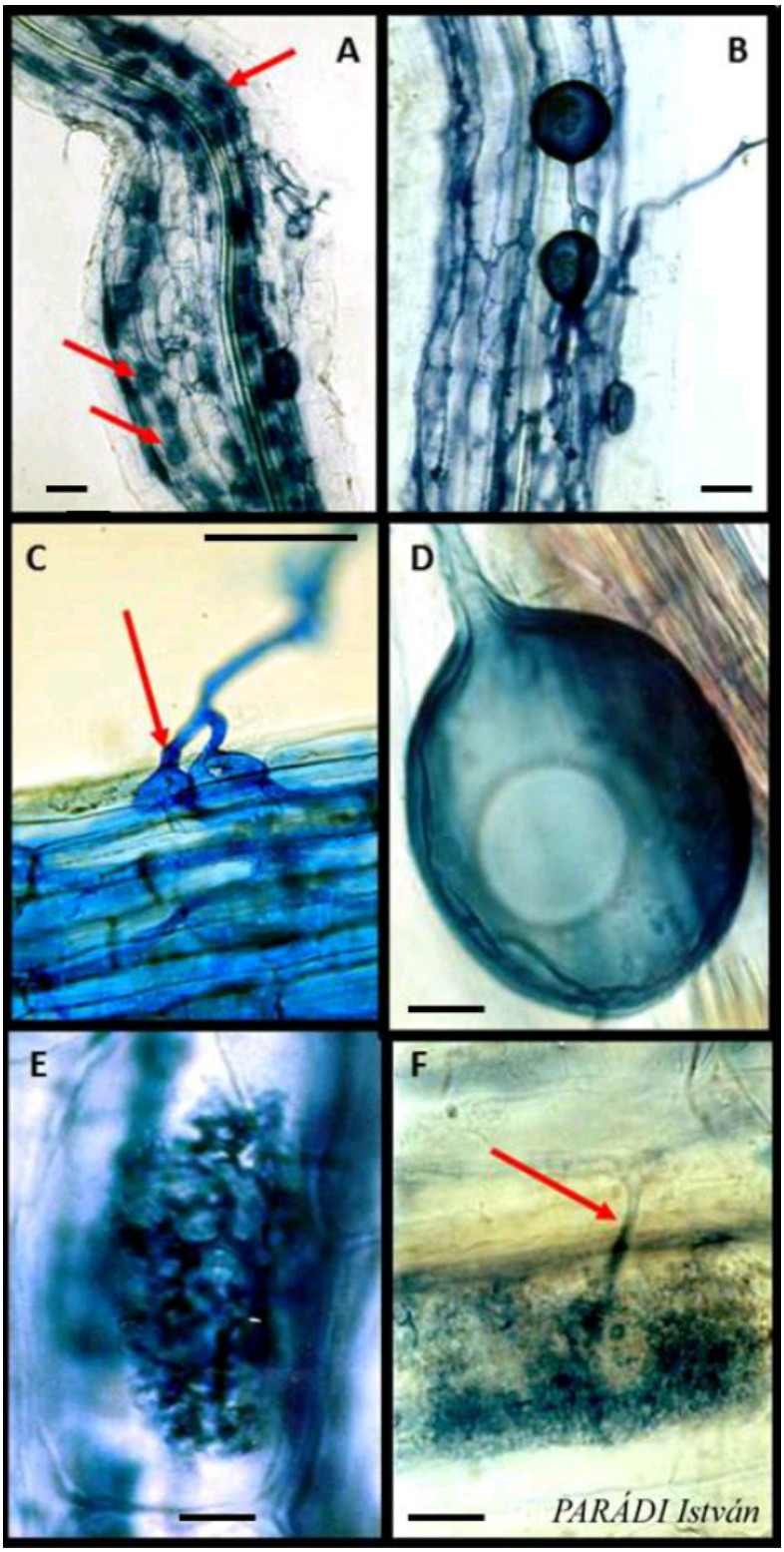
Az AM kolonizáció két alapvető fenotípusa a fentebb részletezett ún. *Arum*-típusú és a *Paris*-típusú, amelyek számtalan kombinációja létezik a növényvilágban. A *Paris*-típusú kolonizáció esetén a hifák nem az intercelluláris terekben terjednek, hanem sejtről sejtre haladva intracelluláris hifahurkokat képeznek, amelyekről arbuszkulumok ágaznak el. A hifahurkok az arbuszkulumokhoz hasonlóan apoplasztikus tápanyagátadó képletek (körülöttük a PAM-hoz hasonló ún. “pericoil” membránnal).

Az AM kolonizáció meghatározásának alapvető módszere a sejtfalak puhítása és a gyökerek színtelenítése főzéssel (10%-os KOH-ban), majd festése (tripánkékkel, anilinkékkel, savas fukszinnal, vagy egyszerűen tintával). A

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

megfestett gyökerekben (12.8 ábra) a gomba mennyiségének meghatározása mikroszkóppal történik, különböző algoritmusokkal számolható a gyökér kolonizációjának intenzitása, illetve az arbuszkulumok vagy vezikulumok gyakorisága. A kolonizáció intenzitásának időbeni változása a gyökérben általában leírható egy szigmoid görbével. A kezdeti *lag* fázis (amelynek hossza a propagulum denzitásával fordítottan arányos) után egy gyors emelkedés következik, ami később egy standard szintre lassul, amikor a folyamatosan növekvő gyökérrel a gomba kolonizáció kiterjedése is tartja a lépést. Idősebb gyökerekben a kolonizált területek jó része azonban már elöregedett, elpusztult (ezt egy egyszerű festés nem különbözteti meg), a mikorrhiza inkább az aktívan növekvő gyökereken működik. A kolonizáció mértéke fajfüggő is, aktív gyökérnövekedéssel bíró fajokban alacsonyabb lehet, de ez nem függ össze közvetlenül a mikorrhiza élettani hatásainak (pl. foszforfelvétel) jelentőségével. A talaj magas foszfortartalma és az alacsony fényintenzitás általában csökkenti a kolonizáció mértékét, ám ezen folyamatok szabályozásának mechanizmusa még jórészt ismeretlen. A megemelkedett CO_2 tartalom a növény növekedésének serkentése mellett a kolonizáció mértékét is képes növelni. Mikorrhizáló növény esetén a behatoló gomba nem, vagy csak kis és átmeneti mértékben váltja ki a növény védekezési reakcióit.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



12.8. ábra AM kolonizáció megjelenítése anilinkékkel festett gyökerekben. A: kolonizált gyökérrészlet arbuszkulumokkal (nyilak), B: kolonizált gyökérrészlet intraradikális spórákkal, C: hifopódium (nyíl), D: vezikulum lipidcseppel, E: arbuszkulum dichotómikus elágazási szerkezete, F: arbuszkulum és törzshifája (nyíl). A C. kép akác gyökért ábrázol, a többi lándzsás útifű. A méretvonalak nagysága 20 µm (A-C), illetve 5 µm (D-F). Parádi István fotói

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

12.2.1.4. Genetikai szabályozás

Az AM szimbiózis genetikai vizsgálatának alapját a kolonizációban vagy szimbiotikus működésben deficiens mutánsok vizsgálata biztosította (pl. lóhere, borsó, paradicsom, rizs, lóbab, kukorica növényeken). A kutatásokat felgyorsította, hogy számos, eredetileg a nitrogénfixáló szimbiózis vizsgálata során izolált mutáns növényi vonalról derült ki, hogy az AM képzés terén is mutáns fenotípust mutat, azaz a két szimbiózis genetikai háttere átfed. Az egyik első izolált mutáns a **Myc**$^-$ (**Pen**$^-$) volt. Ebben a nodulációra is képtelen borsóban a kolonizáció a hifopódium képzésnél leáll, az AM gomba hifája nem tud behatolni a gyökérbe (nincs penetráció). Egyes mutánsokban a hifopódium képzése is zavart szenved, vagy éppen túl sok, abnormális méretű vagy alakú keletkezik. Ezekben a növényekben a sejtfal reakciók felerősödnek, például kallóz rakódik be a hifopódium környezetében. Az **Ard**$^-$ mutánsok esetében a hifák behatolnak a kéregbe, de az arbuszkulumok képződése erősen redukált és ha kialakulnak is, csökevényesek. A **Coi**$^-$ mutánsoknál a hifák behatolnak, de a kortikális kolonizáció már gátolt, felfújt, lufiszerű hifák alakulnak ki a kéreg határán.

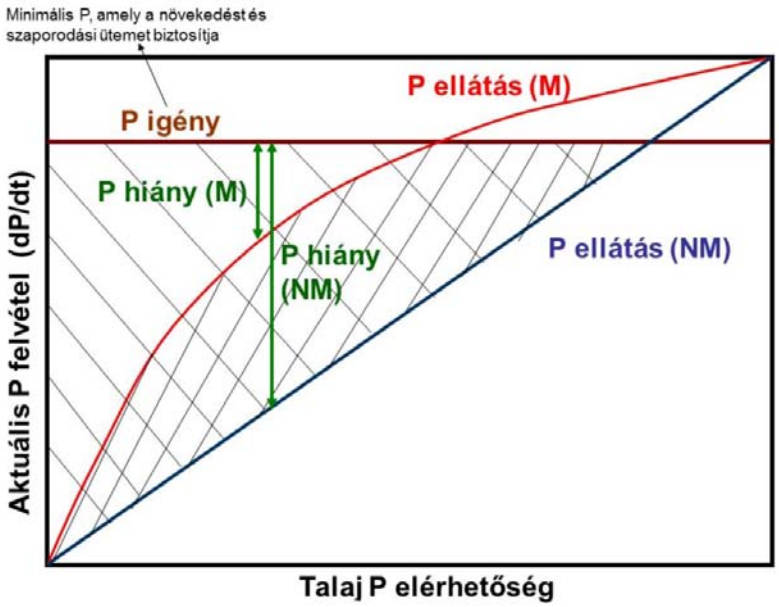
A legújabb eredmények alapján majdnem biztosra vehető, hogy a *Rhizobium*-szimbiózis kialakulásához szükséges növényi génkészlet az ősi AM szimbiotikus génekből evolválódott, de nem minden szabályozóelem egyezik meg és az AM géneknek csak egy részéről lehet szó. Az AM ősi eredete alapján feltételezhető, hogy a nem mikorrhizaképző növények esetén ezen gének szintén jelen lehetnek, de egy-egy alapvető ponton történt mutáció az egész folyamatot “kikapcsolja”.

12.2.1.5. Az arbuszkuláris mikorrhiza szerepe a növények tápanyag-felvételében, különös tekintettel a foszforra.

A nitrogén után a foszfor az az elem, amelynek hiánya a leginkább limitáló hatású a növényi növekedésre. Talajbeli koncentrációja általában a mikromoláris tartományba esik, mozgása pedig főképp csak diffúzióval történik, nagyobbrészt pedig immobilizált állapotban található (Fe-, Al és Ca-foszfát, szerves foszforvegyületek, pl. fitát, foszfolipidek, nukleinsavak) kedvezve így a gyökér körüli hiányzóna kialakulásának és az időbeli és térbeli egyenetlen talajbeli eloszlásnak. Felvétele szervetlen ortofoszfát ($H_2PO_4^-$) formájában történik. Számos P-hiány hatására indukálódó morfológiai és fiziológiai adaptációt leírtak már különböző növényekben. A morfológiai változások közé sorolható a gyökerek szárazanyagtartalmának növekedése, a gyökérnövekedés és gyökérszőrképződés serkentése. Élettani adaptációk a nagyaffinitású foszfát felvételi rendszerek működésbe lépése és a P-felvételi ráta megnövekedése, a rizoszféra savanyítása plazmamembrán-kötött ATP-ázokkal és savas foszfatázok, vagy kelátorok kiválasztása a P mobilizálása érdekében.

Az arbuszkuláris mikorrhiza legjelentősebb élettani szerepét a gazdanövény P felvételének javításán és a növény P tartalmának növelésén át fejti ki. A mikorrhiza hatása erősen függ a növény aktuális foszfor hiányától (12.9. ábra), amely a foszfor igény (az a minimális foszformennyiség, amely az optimális növekedést vagy szaporodási ütemet biztosítja) és az aktuális foszforfelvétel különbsége. A mikorrhiza képes növelni a foszfor felvételét, valamint a növény gyökerének foszforfelvételi képességét morfológiai és/vagy élettani változások révén.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



12.9. ábra A foszfor-elérhetőség, a P-hiány és P-igény összefüggése mikorrhizált (AM) és nem mikorrhizált (NM) növényben

A mikorrhizált gyökér kiterjedése és talajjal való kapcsolata, valamint a tápanyagfelvevő felület a gyökérhez csatlakozó extraradikális hifák révén megnövekszik, amelyekből akár tíz méternél is hosszabb eshet 1 cm hosszúságú kolonizált gyökérszakaszra. A 2-5 µm átmérőjű extraradikális hifák több tíz centiméterre is elérhetnek a gyökérfelszíntől és a talaj olyan pórusaiba is eljuthatnak, ahova a 10-20 µm-es gyökérszőrök nem.

A mikorrhizált gyökér környezetében a hifák termelése révén a savas foszfatázok mennyisége is megemelkedhet, ami a szerves P-vegyületek (pl. RNS, ATP, CMP) felhasználásában játszik szerepet. Az AM gombák képesek a szervetlen, kötött foszfátokat is hasznosítani például a pH csökkentése és CO_2 vagy szerves savak kiválasztása révén, valamint szinergista interakcióban vannak a foszfát-szolibilizáló baktériumokkal.

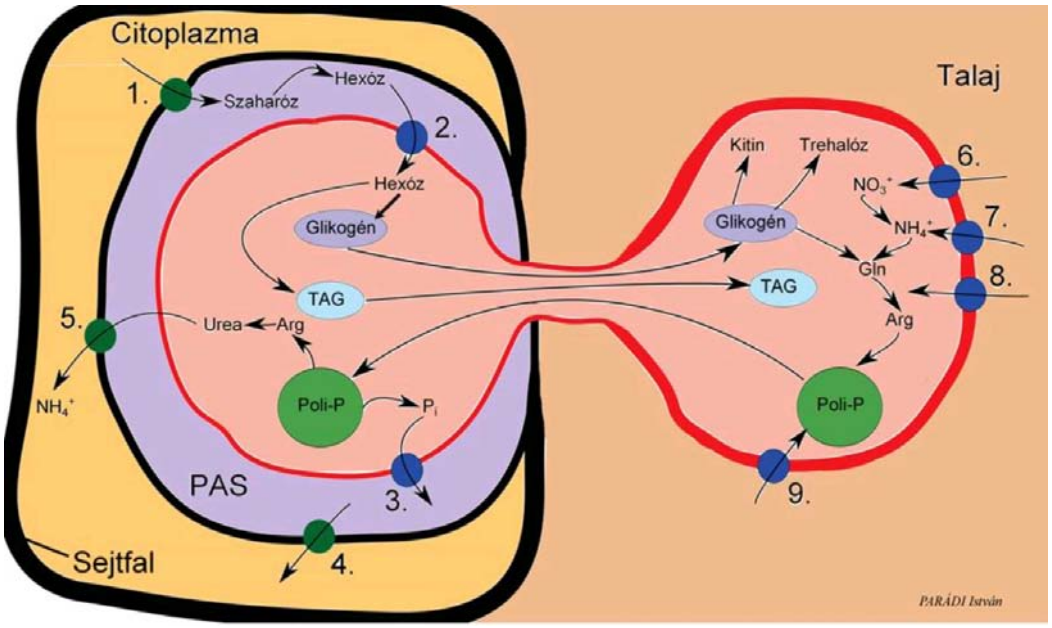
A gombahifákban több foszfát felvételi rendszert (és foszfát transzporter géneket) is azonosítottak, amelyek alacsony, vagy magas affinitású, energiaigényes folyamatok. A hifákba bejutott P polifoszfátként savas vakuólumokban akkumulálódik, vagyis a belső foszfát (P_i) koncentráció minimálisra csökken, ami szintén a felvételnek kedvez. A foszfor ezután valószínűleg plazmaáramlással szállítódik az arbuszkulumba, ahol hidrolizálódik és inorganikus foszfátként (P_i) transzportálódik a növénybe (12.10. ábra).

A **mikorrhizagombák általi foszfátfelvétel** a növény számára nagyon jelentős részt képvisel a teljes felvételből, mikorrhizált növényekben a **direkt növényi foszfátfelvételi út** erősen redukálódik, sokszor nem is működik. Az AM gombák általi P-felvétel még akkor is jelentős lehet, amikor a kolonizáció alacsony mértékű, vagy a növénynek amúgy nem származik növekedésbeli előnye a kapcsolatból.

A hifák nemcsak a foszfát felvételében fontosak, de az nitrogén, a kálium, a cink és a réz abszorbcióját is fokozzák, amely a Cu esetén akár a teljes felvétel 60 %-át is elérheti. A szervetlen N-formák felvételében jelentősebb szerepük lehet, amely aminosavakká, főleg argininné alakul a hifákban. Az arginin a polifoszfátokkal együtt transzlokálódik a hifákban a gyökérbe, de a növénynek már NH_4^+ formában adódik át, akár a N-ellátás 40%-át is biztosítva így (12.10. ábra). A szulfát, a kálcium, a nikkel, a klór, a szilícium és a magnézium felvételében is szerepet játszhat a mikorrhiza egyes szerzők szerint, bár az adatok nem egyértelműek. A mangán gomba általi felvétele elhanyagolhatóan kicsi, a mikorrhiza esetén pedig a kisebb gyökérfelület és a rizoszférába kiválasztott tápanyagok mennyiségének csökkenése miatt (amely a Mn^{+4}-t redukáló és így mobilizáló mikroorganizmusokat serkentené), a Mn koncentrációja csökkenhet is a gazdanövényben.

Az AM gomba hifáinak fontos szerepük van nemcsak a Zn és Cu, de más nehézfémek (Ni, Cd, Ti, U), valamint az arzén toxikus koncentrációi elleni védelemben is. A hifák már a talajban, vagy a gyökérben immobilizálják ezeket a potenciálisan toxikus elemeket és azok hajtás-irányú transzlokációját és akkumulációját csökkenthetik (talajtól, növény- és gombafajtól, valamint koncentrációtól függően).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



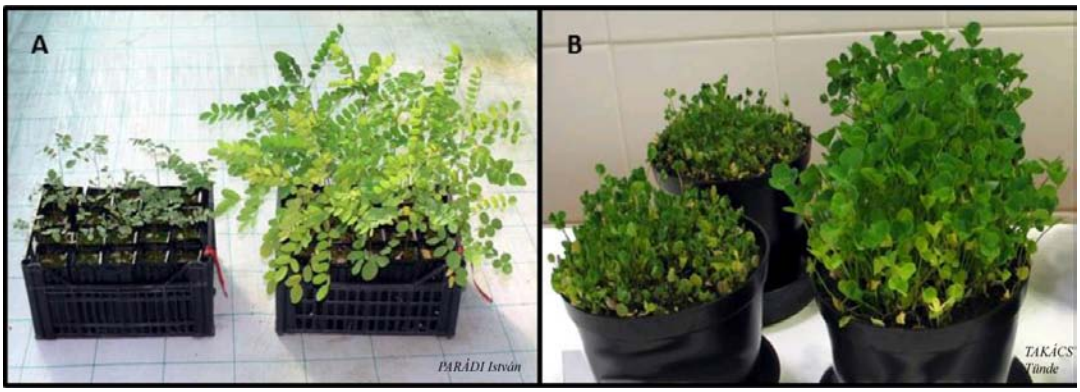
12.10. ábra Tápanyagátadás lépései AM esetén. A bal oldali kép egy idealizált arbuszkulumot jelöl (de a szénhidrát átadás helye nem feltétlenül csak az arbuszkulum). A szaharóz passzív effluxszal jut a periarbuszkuláris térbe (1.), ahol hexózokká hasítódik. A gomba monoszaharid-transzporter felveszi a hexózokat (2.), amelyek a gomba micéliumában glikogén granulumokká és triacil-glicerol (TAG) lipidcseppekké alakulnak. Ez utóbbiak a hifában a hosszútávú szénhidráttranszport egységei, amelyek az extraradikális micéliumban továbbalakulnak (pl. kitinné, trehalózzá, ill. aminosavakká). A foszfátot az extraradikális hifában található nagy hatékonyságú foszfát transzporter rendszerek veszik fel (9.), amelyek polifoszfát-tartalmú vakuólumokban szállítódnak a hifában. Az arbuszkulumban ez utóbbiból felszabaduló szervetlen foszfátokat (Pi) feltehetően egy gomba transzporter adja le (3.) és a növényi foszfát felvételi rendszer juttatja a növényi sejtbe (4.). A gomba a nitrogént nitrát (6.), ammónium (7.) vagy aminosav transzporterekkel (8.) veszi fel. A hifában a nitrogén argininként szállítódik a polifoszfátokkal együtt. A gyökérben ezután a felszabaduló arginin ureává alakul, ami direkt módon, vagy ammóniává alakulva a növénybe szállítódik (5.).

12.2.1.6. Növekedési paraméterek

A legtöbb esetben a mikorrhizált (M) és nem mikorrhizált (NM) növények összehasonlítása során megfigyelhető az ún. **mikorrhizás növekedési válasz** (12.11 ábra). Jellemzően megnő a M növények hajtás/gyökér aránya, mivel főképp a jobb tápanyagellátás hatására nagyobb a hajtás és kisebb mértékű a gyökér növekedése. Sok esetben a M növények nagyobb levélfelülettel is rendelkeznek. Általában magasabb a szövetek foszfortartalma is, hacsak a gyorsabb növekedés nem kompenzálja az emelkedést (de akár luxus felhalmozás is előfordulhat, amely foszforhiányos időszakban használódik majd fel). Megemelkedhet a virágok és a termés mennyisége. Pillangós növényekben és aktinorhizás szimbiózist képező fajokban serkentődik a noduláció és a nitrogénkötés intenzitása. Bizonyos esetekben azonban, például magas foszfortartalom és alacsony fényintenzitás mellett a mikorrhizás növények növekedési hátrányba kerülhetnek. A mikorrhiza szimbiózist fenológiai szempontból egy mutualizmus-parazitizmus tengelyen lehet elhelyezni, amelyet alapvetően befolyásolnak a környezeti tényezők és a kolonizációban résztvevő szimbionta gombák. A parazitizmus persze csak látszólagos, ugyanis bármilyen növekedési hátrány ellenére a kétoldalú tápanyagcsere továbbra is jellemző a partnerekre, így a mutualista jelleg nem változik meg. A mikorrhiza kapcsolat jellemző paramétere az ún. **mikorrhizafüggőség**, amely a nem mikorrhizált kontrollokhoz viszonyított növekedési eltérést jelenti. Azonos körülmények és gombafajok esetén is szélsőségesen eltérő lehet a mikorrhizafüggőség a különböző növényfajok, vagy akár változatok között is. Azok a növények a leginkább mikorrhizafüggők, amelyek gyökere kicsi (kis gyökér/hajtás arány), kevés gyökérszőrrel rendelkezik, illetve a foszforfelvételt elősegítő enzimei/exudátumai hiányoznak, vagy kisebb mértékben termelődnek.

A mikorrhizált gyökér rizoszférájában a baktériumflóra, valamint a talajfauna nagysága és összetétele a gombafajtól erősen függő mértékben és irányban megváltozik, ezért ezt az átalakult gyökérkörnyezetet a “mikorizoszféra” névvel is illetik. Az extraradikális hifák önmagukkal és más egyedek hifáival is képesek anasztomózisra. Az így kialakult hifahálózatot, amely összeköti a növényeket a talajban, **közös micéliumhálózat**nak nevezik.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/



12.11. ábra A mikorrhizás növekedési válasz. **A:** 3 hónapos mikorrhizált (jobb oldal) és nem mikorrhizált (bal oldal) akác csemeték (Parádi István felvétele). **B:** Kadmiumszennyezett talajon növő mikorrhizált (jobb oldal) és nem mikorrhizált (bal oldal) fehér here növények (Takács Tünde felvétele).

12.2.1.7. Szénanyagcsere és szabályozás

Míg az obligát szimbionta/biotróf gomba számára a szimbiózis létrejötte az általános álláspont szerint mindenképpen előnyös, a gazdanövény számára a kapcsolat értéke a külső körülmények függvénye. Ha kielégítő foszforszintek mellett a növényben nem csökken le a kolonizáció intenzitása, a gomba „eltartása" miatt a szimbiózis költségei könnyen meghaladhatják az előnyöket. A növények ezért a mikorrhiza irányában összetett szabályozási rendszerrel rendelkeznek.

A szabályozás meghatározó tényezőjének a növény foszforhiányát tartják, mivel ez a legfontosabb, gomba által szállított tápanyag. A növény számára alacsony P-szint esetén nagyobb mértékű a mikorrhizaképzés. Egyéb tápanyagok hatása általában összetett, de ha a P a többihez képest limitálóvá válik, akkor a kolonizáció intenzitása általában megnő. Ilyen eset a N-ellátás növekedése, mivel ekkor a növény növekedésének gyorsulása miatt csökken a szövetek foszfortartalma. Feltételezhető, hogy nem limitáló foszfortartalom mellett pedig a növény lecsökkenti a szimbionta partnere növekedését. Optimális vagy magas P-szint esetén, amikor a szövetek foszfortartalma is nő, általában csökken az intracelluláris és extraradikális hifák növekedési rátája, a kolonizációs egységek kiterjedése és a másodlagos kolonizációs pontok képződése.

Mivel a gomba által felvett szénhidrátok teljesen, vagy majdnem teljesen a növényből származnak, a szénhidrát átadás változása alapvető szabályozó tényező lehet az AM gomba növekedésében. Ugyanakkor a tápanyagok felvételéhez és növénybe szállításához is kell az energia, tehát egy „jól működő" mikorrhizagomba több szénhidrátot igényel. Amíg a foszfor a limitáló tényezője a fotoszintézisnek, nyereségesen növelhető a szénhidrátkiadás, mivel a többlet P-felvétel által a nettó fotoszintetikus produkció is megnő. A mikorrhizás gyökerek respirációja 20-30 %-kal magasabb lehet és ennek döntő része a gombának tulajdonítható. Intenzíven kolonizált növényekben az AM gomba biomasszája a gyökér biomasszájának 3-20%-át is elérheti. A növény által a gomba számára juttatott szénhidrátmennyiséget az összes megtermelt 4 és 20%-a közé becsülik.

Nem mikorrhizált növények esetén a tápanyagfelvétel költsége rossz tápanyegellátás mellett jóval nagyobb lehet, mivel több szerves anyagot (szerves savak, fitosziderofórok, kelátképzők, savas foszfatázok) választanak ki rizoszférájukba a tápanyagok (direkt és mikróbák általi) mobilizálása érdekében. Végeredményben a fotoszintézis termékeinek kb. 20-40 %-a használódik fel így, ami összevethető a mikorrhiza "eltartásának" költségével. A mikorrhiza alacsony foszfortartalmakon kisebb költségű foszforfelvételi módszert jelent, mint az egyéb adaptációk, egységnyi foszfátot ui. a gomba kisebb költséggel, hatékonyabban képes a növénybe juttatni.

A partnerek közötti szénátadásra többféle mechanizmust is feltételeznek. H^+-ATP-áz az inter- és intracelluláris gombahifák (arbuszkulumok) membránjában is található, ahol kialakítják a cukor és foszfát felvételéhez szükséges elektrokémiai potenciálgrádienst (a cukrokat és foszfátot mindkét partner proton kotranszporttal képes felvenni az apoplasztból). Az arbuszkulumok a növényi szövetek egyik legsavanyúbb területei (pH 2-5 között). Feltételezhető, hogy az arbuszkulumok inkább a foszfát átadásában fontosak, míg a szénhidrátok főleg az intercelluláris hifákon adódnak át. A cukor szaharózként jut a mikorrhizált gyökerekbe, de a gomba már hexózokat vesz fel, amit a növényi invertáz és szaharóz-szintáz gének biztosítanak. A felvett hexózok glikogénné és lipidekké (lipidtestekben: triacil-

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

glicerolból álló mag és ezt körülvevő egyrétegű foszfolipid burok) alakulva citoplazma-áramlással szállítódnak az extraradikális hifákba, amelyek szénfelvételre és lipidszintézisre sem képesek (12.10. ábra).

A növény egyik fő szabályozó eszközének tehát a gomba szénhidráttal (és emellett egyéb tápanyagokkal, például aminosavakkal) való ellátását tartják, amely több szinten történhet, így az gyökérexudáció, a gyökérbe történő szállítás, az arbuszkulumok mennyiségének és az arbuszkulumokban történő transzportfolyamatoknak a befolyásolásán át. Az exudáció mértéke például megnő, ha csökken a foszfor elérhetősége.

Különböző stresszhelyzetekben (kis fényintenzitás, legelés, kedvezőtlen hőmérséklet, patogének, ózon, herbicidek) a nettó fotoszintetikus produkció csökkenése mellett a mikorrhiza kolonizációja és/vagy aktivitása is alacsonyabbá válik. A szimbiózis általában nem épül le teljesen, mert hosszútávon továbbra is előnyös maradhat, például áthidalhatóak a tápanyagok elérhetőségének időbeli változásai.

12.2.1.8. Egyéb élettani jellegzetességek

Mikorrhizált növényekben általában megemelkedik a CO_2 asszimiláció intenzitása, hasonlóan a sztóma-konduktanciához és transpirációhoz és sok esetben a klorofill tartalomhoz. A hatást egyrészt a megnövekedett szénfelhasználásnak, valamint a magasabb citokinin/abszcizinsav aránynak tulajdonították. A citokininek serkentik a Rubisco aktivitását és a ribulóz-1,5-biszfoszfát regenerációját is.

Az arbuszkuláris mikorrhiza számos olyan tulajdonságot hordoz, melyek bizonyos stresszhelyzetekben jelentős előnyökhöz juttathatják a gazdanövényt. Egyfajta stresszpufferként működve, tompítja sokféle biotikus (növénypatogén vírus, gomba, fonalféreg és rovar) és abiotikus stresszfaktor hatását és emeli a rezisztenciát. A korábban említett nehézfémstressz mellett jelentős a szerepe például a szárazság elleni védelemben, valamint szerves xenobiotikumok toxikus hatásait is enyhítheti. A mikorrhizagombák kolonizációja növelheti a talaj és a gyökér vízvezető képességét, de a vízfelvételben feltételezett szerepét nem sikerült egyértelműen bizonyítani. Csökkenti a szárazság hatására indukálódó abszcizinsav termelést, ezáltal növelve a sztómakonduktanciát. Talajbeli hifahálózata optimalizálja a talajszerkezetet (ún. mikro- és makroaggregátumokat képez és stabilizál), aminek hatására javul a talaj vízmegtartó képessége és így a növény vízfelvételi lehetősége.

A mikorrhiza számos hatása a növény hormonháztartásának módosulásán keresztül valósul meg. A citokininek szintjét például általában megemeli. Foszforhiány esetén csökken az etilén szintézisének sebessége, amely így kisebb gátló hatást fejt ki a kolonizációval szemben. A mikorrhizagombák is termelhetnek növekedésszabályozó anyagokat, ahogyan azt citokinineket és gibberellineket termelő csírázó spórák esetén kimutatták.

A szimbiózis növekedésre és az élettani paraméterekre gyakorolt szerepének értékelésében, főképpen pedig a hormonális viszonyok vizsgálatában alapvető problémát jelent a tápanyagfelvétel serkentésén át kifejtett (közvetett) hatások eredőjének és a szimbionta gomba közvetlen szerepének az elkülönítése. A mikorrhiza szerepének értékelésében fontos szempont, hogy a mikorrhizát nem képző fajokat leszámítva a természetben nem mikorrhizált növények csak extrém körülmények között (pl. nagymértékben zavart, vagy elárasztott talajok) találhatóak, valójában a mikorrhizált állapot tekinthető a természetesnek.

12.2.2. Ektomikorrhiza (EM)

Az ektomikorrhizának három alapvető struktúrális jellegzetessége (1) a gyökércsúcsokat beborító **gombaköpeny**, (2) a kéregben intercellulárisan növő **Hartig-háló**, valamint (3) a gyökérből kifelé növő, a talajjal való összeköttetést biztosító hifák, az **extraradikális micélium**. Az ektomikorrhiza képzése során intracelluláris penetráció nem fordul elő. Az EM több különböző, független alkalommal alakult ki az evolúció során, amelynek során addig szaprotróf életmódot folytató gombák váltak képessé mutualista szimbiózis létrehozására. Az egyes EM kapcsolatok között ezért is fedezhető fel viszonylag jelentős szerkezeti eltérés (ami a három alapjelleget nem befolyásolja) és ezért képes a gombák viszonylag széles köre EM kialakítására. Az eddig megszekvenált két EM gomba genomjának vizsgálata is alátámasztja ezt, mert a bazídiumos *Laccaria bicolor* és az aszkuszos *Tuber melanosporum* között legalábbis nem találtak közös szimbiotikus genetikai eszköztárat.

12.2.2.1. Gazdanövények

A virágos növényfajok csupán 3%-a képez ektomikorrhizát, de ezeknek a fajoknak a széleskörű elterjedése és ökológiai szerepe miatt az EM mégis kiemelkedően fontos. A Pinaceae (fenyőfélék), Betulaceae (nyírfafélék) és

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO Formatter, visit us at http://www.renderx.com/

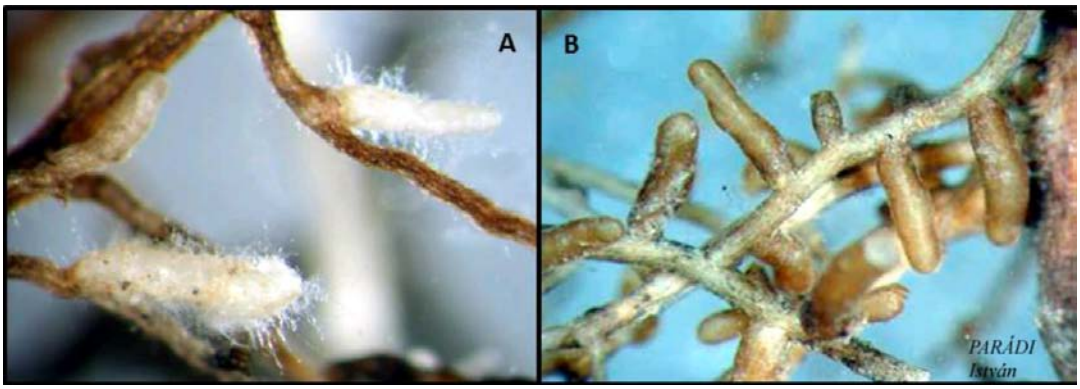
Fagaceae (bükkfafélék) családok tagjai az északi, a Nothofagaceae tagjai pedig a déli mérsékeltövi területeket borító erdőkben, a Dipterocarpaceae és Caesalpinoideae tagjai pedig a trópusi esőerdőkben EM képzők. Csak néhány cserje és lágyszárú képez EM-et, például a naprózsa (*Helianthemum annuus*) amely hazánkban is megtalálható. A Myrtaceae (pl. *Eucalyptus*) és Salicaceae (*Salix* és *Populus*) családok tagjainál AM és EM képzés is történik, az AM általában a fiatal növények esetén, az EM pedig a kifejletteknél jelentős. 50 millió éves *Pinus* fosszíliákban már találtak ektomikorrhizát, de a szimbiózis eredete bizonytalan, elképzelhető jóval régebbi, akár a *Pinus* nemzetség kialakulásával egyidejű 130 milliós kor is.

12.2.2.2. Gombapartnerek

Nagyjából 5-6000 gombafaj, több aszkuszos és bazídiumos család tagja képes az EM létrehozására, filogenetikailag 18 elkülönülő csoportba sorolták őket (pl. *Amanita, Boletus, Cantharellus, Cortinarius, Hebeloma, Paxillus, Lactarius, Russula*, ill. *Tuber* fajok). Számos gasztronómiailag is értékes faj képez ektomikorrhizát (rókagomba, vargánya, szarvasgombák). Az EM szerkezete és működése alapvetően a növénypartnerektől függ, amely biztosítja, hogy ilyen széles diverzitással rendelkező gombacsoport tagjaival is hasonló szimbiózis alakuljon ki. A növényeknél általában nincs, vagy alacsony a specificitás a gombákkal szemben, ami érthető, hiszen fontos, hogy minél több lehetséges partnerrel alakítsanak ki kapcsolatot, így növelve a potenciális előnyöket egy adott élőhelyen. A gombák esetén szintén léteznek generalista fajok, de sok esetben írtak le szorosabb specificitást a gazdanövénnyel szemben (pl. *Suillus* fajok a Pinaceae családdal).

12.2.2.3. Az EM kialakulása

Az ektomikorrhiza a gyökerek laterális elágazásain alakul ki, amelyeknek korlátozza a növekedését. A talajban növő gombahifák a növényi szignálok hatására elágazódnak és a gyökér felé kezdenek növekedni, majd az oldalgyökér körül bevonatot képeznek, amelyből kialakul a gombaköpeny. A szignálok az AM esetén azonosított flavonolokhoz és sztrigolaktonhoz hasonlóak lehetnek, de a növényi hormonoknak (auxin, citokinin) is lehet hatása a hifák növekedésére. A gombaköpeny színe, formája és szerkezete jellegzetes, a gombafaj meghatározására alkalmas jellegek (12.12. ábra), tömege egy kolonizált gyökér 20-40 %-át is kiteheti. Amennyiben az oldalgyökér megnyúlása után történik a kolonizáció, az meg is vastagodhat, ebben az esetben alakulnak ki a jellegzetesen megduzzadt mikorrhizás gyökércsúcsok. A gombaköpenyből kiindulva, az epidermisz felé növekedve hozzák létre a hifák a Hartig-hálót, amely a zárvatermők többségében csak az epidermiszben lokalizált (epidermális típus), ám a nyitvatermőknél a kérget magában foglalva egészen az endodermiszig terjedhet (kortikális típus). A gomba behatolását és haladását a szövetben minden bizonnyal elősegítik az általa kiválasztott sejtfalbontó enzimek. A gombaköpeny szerepe a tápanyagok tárolása és szűrése, a tápanyagfelvételt és gyökérhez szállítását a köpenyből kiágazó hifák, illetve egyszerűbb vagy összetettebb szerkezetű, párhuzamosan futó hifákból álló képletek, az ún. **rizomorfok** végzik. A rizomorfok többszörösére növelik a növény tápanyagfelvevő felületét, egy méter gyökérre akár több száz méter hosszúságú kiágazó hifa is eshet. A fejlődő és érett EM gyökerekből számos speciális, csak mikorrhiza mellett expresszálódó gént izoláltak, amelyek termékeit összefoglaló néven ektomikorrhizineknek nevezik. Ezek mellett számos egyébként működő gén expressziójának emelkedését, vagy éppen gyengülését is detektálták, amelyek az összes gén kb. 10 %-át teszik ki. Az EM kialakulása során fontos szerepet kapnak a sejtfalfehérjéket kódoló gének, a vízháztartást és sejtfelismerést befolyásoló hidrofóbinok, aquaporinok, glikolízis és citrát-ciklus fehérjék génjei, valamint a növényi védekezőrendszer génjei (metallotioneinek, HR és PR fehérjék), amely gének működése jellegzetes mintázatot követ a mikorrhiza kialakulása és érése során.



XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

12.12. ábra EM gyökércsúcsok fehér fűz (*Salix alba*) gyökéren. **A.:** *Hebeloma crustuliniforme*, **B:** *Tuber* sp. Parádi István felvételei

12.2.2.4. Szénanyagcsere

Már a 19. század vége óta ismert, hogy az EM szimbiózis segíti a gazdanövények növekedését. A gomba a növénynek szállított tápanyagokért (N, P) cserébe fotoszintetikus asszimilátumokat kap, átlagosan a növény által megtermelt mennyiség 10-20 %-át. Az EM növények esetén (az AM-hoz hasonlóan) általában magasabb a hajtás P tartalma és magasabb hajtás/gyökér aránnyal rendelkeznek, kivéve ha alacsony a fényellátás. Megfigyelték azt is, hogy egyes gombafajok, de fajon belül törzsek között is lényegesen eltérő lehet a gomba hatása a gazdanövényre. A gomba növekedésre gyakorolt hatását nagymértékben befolyásolja a szénigénye, ami pedig jórészt a gomba micéliumának méretétől függ. Az EM gombák közös jellemzője, hogy táptalajon növeszthetők, de kevéssé képesek komplex polimerek (pektin, cellulóz, lignin) lebontására, az egyszerű cukrok felvételét részesítik előnyben. A gomba ellátása érdekében a növény szaharózt juttat az apoplasztba, amit egy savas pH optimummal rendelkező invertáz bont glükózzá és fruktózzá. A savas pH-t a gomba és a növény membránjában található H^+-ATPázok biztosítják. A gomba főleg a glükózt, de annak hiányában a fruktózt is képes felvenni hexóz transzporterével, amelyek a gomba micéliumában trehalózzá, glikogénné és mannitollá alakulnak. Egy növényi monoszaharid transzporter is megtalálható a plazmamembránban, amely visszaveszi a monoszaharidokat, ezáltal csökkentve az átadott szén mennyiségét és egy fontos szabályozási lehetőséget teremtve. Az EM gomba (az AM-hez hasonlóan) a fotoasszimilátumok felhasználásával, a P-ellátás növelésével és esetleg hormonális hatásokkal képes emelni a gazdanövény fotoszintézisének intenzitását. Megfigyelték EM növények leveleiben a szaharóz-foszfát szintetáz aktivitásának emelkedését is.

12.2.2.5. Tápanyagfelvétel, élettani jellemzők

Az EM alapvetően a N felvételére specializálódott szimbiózis, mivel a sarkköri és mérsékelt égövi erdőkben éppen a N a leginkább limitáló tápanyag. (Ellentétben az AM dominálta füves sztyeppékkel és esőerdőkkel, ahol inkább a P-hiány okoz gondot.) A gyökerek által elérhető talajtérfogat többszörösét hálózzák be a hifák, így nagy hatékonysággal képesek felderíteni és a növénybe transzportálni a tápanyagok foltokban előforduló feldúsulásait. A szervetlen N formák közül az ammóniumot a nitrátnál hatékonyabban képesek felvenni, ami egybevág azzal, hogy az erdei talajokban az NH_4^+ fordul elő nagyobb mennyiségben. A szerves N-formák elérésében is jelentős lehet a szerepük, így a főleg savanyú talajokban jelentős mennyiségben előforduló aminosavak, illetve egyes EM gombák esetén a fehérjék esetén is. Az EM jelenlétében a proteolitikus aktivitás is megemelkedik, aminek oka lehet az EM gomba direkt enzimtermelése és a szaprotróf gombák működésének serkentése is.

Az EM a foszfát felvételében is szerepel mind szervetlen, mind szerves kötött formákból. A K, Mg és Ca felszabadításában, felvételében és transzportjában játszott szerepükről is egyre több adat gyűlik össze. Foszfatázok, valamint proton és szerves savak effluxa révén az EM gombák elősegíthetik a kémiai mállás folyamatát, ezzel gyorsítva a kőzetekben kötött kationok felszabadulását. Jelentősek a nehézfémek elleni védelemben is, főképpen az extraradikális hifák és a gombaköpeny szabad kötőhelyein történő immobilizálás, illetve a kibocsátott szerves savak által létrehozott kelátok képzése révén. A növények vízellátásának és szárazságtűrésének növelésében is bizonyított a szerepük. Az EM gyökerek magasabb hidraulikus konduktanciájának hátterében például az EM esetén specifikusan expresszálódó aquaporin gének működése állhat, ezenkívül az extraradikális micélium vízszállító szerepe is lényeges lehet.

12.2.3. Egyéb mikorrhizatípusok

Az AM és EM mellett számos, szerkezetileg különböző mikorrhizát írtak le, amelyek alapvetően egy szűkebb növénycsoport speciális igényeihez alkalmazkodott szimbiózisok. A változatosság egyik oka, hogy a növényeknek alapvető hatása van a gyökereken képzett mikorrhiza típusára, sok esetben ugyanaz a gombacsoport más típusú mikorrhizát képezhet különböző növényeken.

12.2.3.1. Ektendomikorrhiza

Szerkezete alapvetően hasonlít az EM-re, azzal a kivétellel, hogy itt intracelluláris penetráció is megfigyelhető (szeptált hifák által képzett hifahurkok). Fenyőfélék (*Pinus*, *Larix*, *Picea*) csemetéinek korai kolonizációs típusát jelentik, amely a fejlődés során később átadja helyét az EM-nek. Élettani jellemzőiről keveset tudni, egyes

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

feltételezések szerint egy kisebb szénigényű tápanyagfelvételi mechanizmust jelentenek egy szerényebb fotoszintetikus produkcióra képes fiatal növény számára. A gombapartner aszkuszos, a Pezizales rendbe tartozó *Wilcoxina* nemzetség. Az ektendomikorrhiza vizsgálatánál különösen fontos szempont, hogy könnyen összekeverhető az EM azon tulajdonságával, hogy szeneszcens kortikális sejtekben képes intracelluláris kolonizációra.

12.2.3.2. Arbutoid mikorrhiza

Az Ericaceae családba tartozó lágyszárú Pyroleae nemzetségcsoport (körtikék), valamint az Arbutoideae alcsalád *Arbutus* (szamócafa) és *Arctostaphylos* (medveszőlő) fásszárú nemzetségei az egyébként EM-et képző bazídiumos gombákkal (pl. *Hebeloma*, *Laccaria*, *Lactarius*, *Rhizopogon*, stb. fajok). ún. arbutoid mikorrhiza kialakítására képesek. Az EM-hez hasonló gombaköpeny és Hartig-háló alakul ki, de emellett a kéreg külső sejtjeiben intracelluláris hifahurkok is találhatók. Funkcionális jelentőségük az EM-hez lehet hasonló. *Pyrola* fajok esetén jelezték, hogy a gombák kettős kolonizációs képessége és a két párhuzamos gazdanövény térbeli közelsége lehetőséget teremt ezen növények számára a részlegesen mikoheterotróf életmódra. Ebben az esetben a gombapartner nemcsak a nitrogén, de az EM szimbiózist képző gazdanövény által megtermelt szén forrása is lehet az arbutoid, egyébként részlegesen klorofillhiányos partner számára.

12.2.3.3. Erikoid mikorrhiza

Az Ericaceae (Hangafélék) rend tagjainak ökológiai szerepe és földrajzi elterjedtsége is jelentős: a rendkívül tápanyagszegény talajú fenyérek, tundrák, mediterrán cserjések tipikus növényei. A rend tagjainak többsége erikoid mikorrhizát képez az aszkuszos *Rhizoscyphus ericae* gombával (Helotiales rend), bár más gombákról is feltételezik ezt a szerepet. A hangafélék gyökerein nem találhatók gyökérszőrök, ellenben nagyon finom, vékony, szőrszerű gyökereik vannak. Ezen vékony gyökérrészekben az egyszerű felépítésű sztélét egy két sejtrétegű kéreg határolja (endodermisz és exodermisz), majd az epidermisz következik, amelynek érett sejtjeiben a kolonizáció lokalizált. Az epidermisz idősebb gyökerekben eltűnik, ezért csak meghatározott korú gyökerek képesek a mikorrhiza létrehozására (a kolonizált sejtek életideje kb. 5-6 hét). A hifa a behatolás után hurkot képez, amely szinte teljesen kitölti a sejtet. A sejtmembrán és a hifa között egy ún. interfaciális mátrixot azonosítottak, amely feltehetőleg az anyagátadás színtere, a növényi sejtben pedig felszaporodnak az endoplazmatikus retikulum és a mitokondriumok, jelezve a magasszintű metabolikus aktivitást. Az erikoid mikorrhiza élettani szerepe a tápanyagok felvételének javítása, azok növénybe szállítása. A gombák jelentős szaprotróf képességekkel bírnak, amely segítségével mobilizálni képesek a kötött szerves N és P formákat (pl. extracelluláris enzimek révén). Komoly szerepük lehet még a potenciálisan toxikus fémek elleni védelemben is.

12.2.3.4. Orchid mikorrhiza

Az Orchideaceae az egyik legnagyobb diverzitással rendelkező növénycsalád, jelen becslések szerint 20-35.000 fajjal, emellett az egyik leginkább specializált növénycsoport, amely nagyjából 80 millió éve alakulhatott ki és kozmopolita elterjedéssel bír (bár többségük trópusi). Magjaik rendkívül kicsik, endospermium nélküliek, ezért már a csírázáskor mikorrhizapartnerre szorulnak. A gombapertnerek a zöld, fotoszintetizáló orchideák esetén jellemzően a polifiletikus bazídiumos (anamorf) *Rhizoctonia* nemzetség tagjai. Jellegzetes intracelluláris hifahurkot, ún. pelotont képeznek az embrióban, az abból kialakuló csíranövényben, az ún. protokormban és a kifejlett egyedek rizómáiban vagy gyökereiben (a kéreg külső részében). A peloton egy sokszorosan elágazó és feltekeredett hifa, amelynek életideje rövid, kb. egy nap, de eltűnése után a növényi sejt újra kolonizálható. A lízis oka vélhetően a növény védekező rendszerének aktiválódása (savas foszfatázok, 1,-3 béta glükanázok, kitinázok). Hasonlóan tehát az AM-hez, de ellentétben az erikoid mikorrhizával, egy szerkezetileg rendkívül dinamikusan alakuló kapcsolatról van szó az orchid mikorrhiza esetében. A csírázó növény mikoheterotróf, természetes körülmények között a gomba által biztosított szénforrás nélkül növekedésre képtelen és majd csak a zöld levelek kifejlődésekor vált autotróf életmódra. A növény ugyanakkor élettani értelemben nem obligát szimbionta, a gomba nélküli nevelés lehetséges, ha megfelelő felvehető cukrokat tartalmazó táptalajon nő. A gombák változatos szénforrások lebontására képesek (pektin, keményítő, cellulóz, lignin). A szénellátás mellett a növény N- és P-igényének kielégítésében is komoly szerepük van. A gomba fotoszintetikusan megtermelt szénhidrátokat kap a kifejlett növénytől, bár ennek jelentőségét sokan vitatják. Az orchidea növény és gombapartnere közötti szimbiózis kialakulása az AM-hez viszonyítva sokkal változatosabb és bizonytalanabb. A fejlődő növényben sok esetben alakulhat ki parazitizmus a gomba részéről és nem egyértelmű a mutualizmus stabilizálódása minden esetben, mert ahhoz mindkét fél részéről a védekezési és parazita folyamatok folyamatos, dinamikus egensúlya szükséges (ellentétben az AM esetén jellegzetes, rövid ideig tartó és alacsony intenzitású növényi védekezési válasszal).

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/

12.2.3.5. Monotropoid mikorrhiza és egyéb mikoheterotróf mikorrhiza kapcsolatok

A klorofill és így az önálló autotróf szénellátás elvesztésének egyik lépcsőfokát jelentik a **mikoheterotróf növények**, amelyek a gombapartnerük epiparazitáiként viselkednek, gyakran közvetve a gomba egyéb mikorrhizás kapcsolatából származó szénforrásokat használva fel. A legtöbb mikoheterotróf fajt az orchideafajok adják, amelyek esetén a klorofill elvesztésének széles skálája figyelhető meg, a teljesen klorofillhiányos fajoktól (pl. *Neottia nidus-avis*) a részlegesen autotróf, ún mixotróf fajokig (pl. *Limodorum abortivum, Corallorhiza trifida*). Tipikus mikoheterotróf fajok még egyebek mellett például a fényhiányos élőhelyeken előforduló, ún. **monotropoid mikorrhizát képző,** Ericaceae családba tartozó Monotropoideae alcsalád minden tagja, amelyek EM gombafajokkal állnak kapcsolatban, illetve az AM gombák által kolonizált Gentianaceae család egyes fajai.

A monotropoid mikorrhizát képző fajok szoros közelségben élnek a gombapartner EM tűlevelű gazdanövényeivel és a gomba, a fenyő és a monotropoid növény gyökerei szoros közelségben, egy ún. gyökérlabdát hoznak létre. A vastag gombaköpeny és az epidermiszre korlátozódó Hartig-háló itt is megfigyelhető, a monotropoid mikorrhizára jellemző speciális képlet azonban az ún csap (peg). A csapok kialakulása során Hartig-hálóból kiinduló hifák meghatározott pontokon behatolnak az epidermiszsejtekbe, amelyek sejtfala magába ágyazza a hifát. Ezután a beágyazó sejtfalból nyúlványok növekednek az epidermiszsejt belsejének irányába, megnövelve a csap felületét, amely így egy transzfersejthez lesz hasonlatos. Feltehetőleg ez a szerkezet felelős a gomba részéről történő anyagátadásért. Végül, nagyjából a terméséréssel egyidőben, a csap végéből egy növényi membrán által határolt zsákocska türemkedik be az epidermiszsejt citoplazmájába, amely a gomba által képzett csap anyagát tartalmazza, de közvetlenül nem érintkezik a citoplazma tartalmával. Ennek szerepe kérdéses, az anyagátadási funkcióra nincsenek egyértelmű bizonyítékok.

A mikoheterotróf orchideafajok nem *Rhizoctonia* fajokkal, hanem főleg a környező fákat kolonizáló EM gombákkal lépnek kapcsolatba, kisebb részben pedig patogén vagy lebontó gombákkal. A gombapertnerek a legtöbb esetben ugyanúgy pelotonokat képeznek a kéreg külső részén, mint a fotoszintetizáló fajokban, azaz a növény által megszabott struktúrális jelleg itt is érvényesül. Előfordul a monotropoid jellegűhöz hasonló csapok kialakulása is.

Az AM gombák által kolonizált növények (pl. Gentianaceae, Polygalaceae, Corsiaceae, Triuridaceae) esetén szintén feltételezhető, hogy a gomba által kolonizált autotróf növények a forrásai a mikoheterotrófok által a gombán keresztül felvett szénvegyületeknek. Az AM alapvetően *Paris*-típusú kolonizációt mutat, kiterjedt hurokképzéssel a kéregben, amelyek degenerálódhatnak.

A mikoheterotróf növények egy sajátos formáját jelentik a “csaló” kapcsolatnak, a gomba számára ui. semmilyen egyértelmű előny nem származik a kapcsolatból az eddigi ismeretek alapján. Erre utal a különösen magasszintű specificitás is, a parazita jellegű növénynek alkalmazkodnia kell a gombapartnerhez csakúgy, mint más parazita kapcsolatok esetében ez megfigyelhető.

12.3. Zárszó

A növénybiológia egyik alapvető paradigmája dőlt meg annak felismerésével, hogy a természetben a növények sohasem élnek egymagukban, működésük elválaszthatatlan részét képezik a szimbionta szevezetek, a természetes viszonyok értelmezése tehát csakis egy komplex szimbiotikus rendszerben lehetséges. Valójában a steril körülmények között, szimbionta nélkül nevelt növényegyedek tanulmányozása egy a természetben soha elő nem forduló állapot vizsgálata.

XML to PDF by RenderX XEP XSL-FO F ormatter, visit us at http://www.renderx.com/