

ROLA PIERWOTNYCH POMP METALOWYCH (P_{1B}-ATPaz) W UTRZYMYWANIU HOMEOSTAZY METALI CIĘŻKICH W KOMÓRKACH ROŚLINNYCH*

THE ROLE OF PRIMARY METAL PUMPS (P_{1B}-ATPases) IN THE
MAINTAINING OF HEAVY METALS HOMEOSTASIS IN PLANT CELLS

Magdalena MIGOCKA

Instytut Biologii Roślin, Zakład Fizjologii Roślin, Uniwersytet Wrocławski

Streszczenie: P_{1B}-ATPazy, należące do rodziny P-ATPaz, transportują metale ciężkie przez błony komórkowe wykorzystując ATP jako źródło energii. W związku z pełnioną funkcją mają specyficzne motywy strukturalne (motyw Cys-Pro-Cys/His/Ser) lub fragmenty bogate w His, które mogą odpowiadać za przyłączanie i przeniesienie jonu metalowego. Rośliny, w porównaniu z innymi organizmami, mają więcej P-ATPaz typu P_{1B}. W związku z tym przypuszcza się, że roślinne pompy metalowe wykazują zróżnicowanie zarówno pod względem pełnionych funkcji, jak i rozmieszczenia w komórce. Badania z ostatnich lat potwierdzają te przypuszczenia, wskazując na potencjalną rolę tych białek w dystrybucji metali w obrębie komórek i tkanek oraz w usuwaniu nadmiaru jonów metalowych poza obszar cytoplazmy. Poszczególne białka tej podrodziny wykazują przy tym odmienne powinowactwo do różnych metali. W pracy zebrano dotychczasowe dane dotyczące P_{1B}-ATPaz, ze szczególnym uwzględnieniem ich roli w utrzymaniu równowagi metali ciężkich w komórce roślinnej: udziału w żywieniu mineralnym roślin i detoksykacji komórek roślinnych w warunkach nadmiaru metali ciężkich w środowisku.

Słowa kluczowe: metale ciężkie, transportery pierwotne, ATP-azy.

Summary: The sub-family of the P-type ATPases superfamily, P_{1B}-ATPases, comprises primary metal transporters using ATP as the source of energy. According to their function, they contain the specific structural motifs (Cys-Pro-Cys/His/Ser motif) and His rich domains, that may participate in metal binding and transport across the membranes. Higher plants possess more P_{1B}-ATPases than do other organisms and these are located in different cell membranes and tissues having a variety of tasks. It was shown that plant P_{1B}-ATPases play a crucial role in the distribution of metals inside the cells and tissues as well as in the exclusion of toxic metals from the cytosol. According to this, the different metal specificity was revealed for various members of plant P_{1B}-ATPases. We present the family of P_{1B}-ATPases with emphasis on the role of plant metal pumps in maintaining of metal homeostasis: delivery of the essential metals to target proteins and detoxification of cell from the heavy metals excess.

Keywords: heavy metals, primary transporters, ATPases.

*Praca częściowo finansowana przez Komitet Badań Naukowych (grant nr 2P04C 123 29).

WSTĘP

W ostatnich latach obserwujemy stale wzrastające zanieczyszczenie gleb uprawnych metalami ciężkimi. Wynika to przede wszystkim z przemysłowej i rolniczej działalności człowieka. Wiele nawozów stosowanych w rolnictwie zawiera w swoim składzie takie metale ciężkie, jak Pb i Cd, stąd zanieczyszczenie spowodowane tymi metalami występuje powszechnie na użytkach rolnych. Rośliny jako organizmy nieprzemieszczające się w trakcie całego cyklu życiowego są szczególnie narażone na nadmiar jonów metali ciężkich w glebie. Toksyczne stężenia metali objawiają się u roślin takimi symptomami, jak: chlorozy i nekrozy, karłowacenie, odbarwienie liści czy zahamowanie wzrostu korzeni [22]. Na poziomie subkomórkowym metale ciężkie mogą zaburzać aktywności enzymów lub funkcje białek strukturalnych, poprzez wiązanie do ich grup aminowych, karboksylowych i sulfhydrylowych. Konsekwencją nadmiernego pobierania metali ciężkich przez roślinę może być również deficyt innych, niezbędnych dla prawidłowego metabolizmu jonów, zaburzanie procesów transportu komórkowego i stres oksydacyjny [22]. Z drugiej strony, większość metali pełni istotne funkcje w metabolizmie roślinnym. Rośliny musiały zatem rozwinąć bardzo precyzyjne mechanizmy utrzymujące stężenie jonów metali ciężkich w cytosolu na odpowiednim poziomie. Kluczową rolę odgrywają tu procesy transportu metali przez zewnętrzne i wewnętrzne błony komórkowe. Są one bardzo efektywne u hyperakumulatorów, roślin wykorzystujących wyspecjalizowane błonowe systemy transportowe do usuwania nadmiaru metali do wakuoli lub apoplastu. Szczególną rolę w regulacji komórkowej homeostazy metali ciężkich przypisuje się w ostatnich latach pierwotnym transporterom metali ciężkich z podrodziny P_{1B} -ATPaz należącej do grupy P-ATPaz. Wydaje się, że to właśnie pompy metalowe odpowiadają w dużej mierze za dystrybucję i/lub wydalanie jonów metali ciężkich z komórek roślinnych [23]. Z uwagi na liczne doniesienia, opisujące badania nad poszczególnymi białkami tej podrodziny, w artykule zebrano dotychczasowe wyniki i wnioski dotyczące charakterystyki, budowy i przewidywanej funkcji P_{1B} -ATPaz u roślin.

P_{1B} -ATPazy W ŚWIECIE ŻYWYM

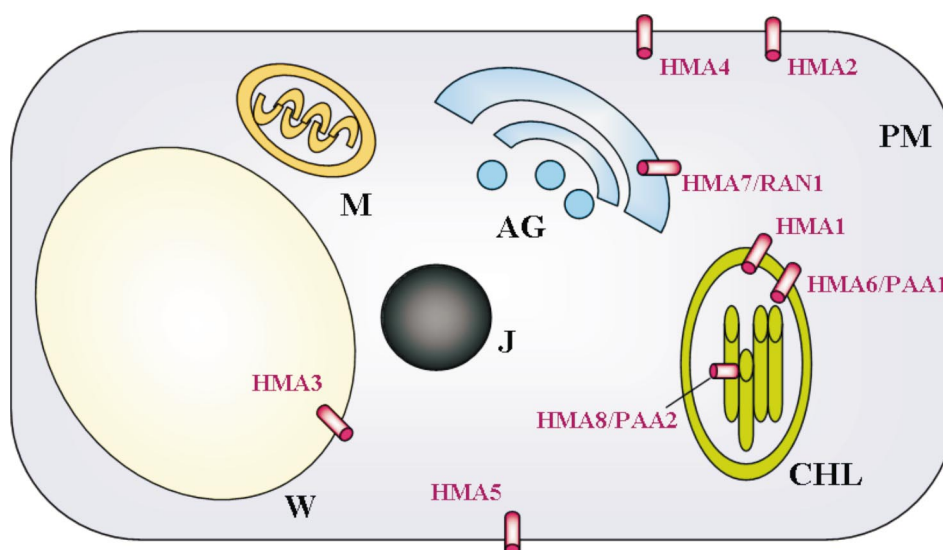
Dotychczasowe badania wykazały, że pompy metalowe wyodrębniły się wcześniej w procesie ewolucji jako osobna podrodzina z grupy P-ATPaz [3]. Obecność P_{1B} -ATPaz wykazano zarówno u *Archea*, jak i u *Eucaryota*, a zatem u organizmów tak różnych, jak: bakterie, drożdże, rośliny i człowiek [3]. Pierwsze doniesienia dotyczące charakterystyki P_{1B} -ATPaz pochodziły z badań opisujących dwie miedziowe ATPazy: CopA i CopB u *Enterococcus hirae* [18]. Wykazano wtedy, że CopA uczestniczy w imporcie Cu(I) do komórki w warunkach deficytu miedzi w środowisku, natomiast CopB wyrzuca Cu(I) na zewnątrz w warunkach nadmiaru tego metalu w komórce. Białka te wykazywały również powinowactwo do Ag(I). Do podrodziny pomp metalowych należą również dwie ludzkie P-ATPazy miedziowe: ATP7A i ATP7B [6]. Dysfunkcja tych białek powoduje

zaburzenia w metabolizmie miedzi u człowieka: chorobę Menkesa (defekt w ATP7A) i chorobę Wilsona (defekt w ATP7B) [6]. Obydwie ATPazy są podobne w 40% do białka CopA *E. hirae* [22]. Zidentyfikowane u drożdży białko CCC2, transportujące miedź do pęcherzyków Golgiego, to także ATPaza typu P_{1B} [22]. Pierwszą zidentyfikowaną roślinną P_{1B}-ATPazą było białko PAA1 *Arabidopsis thaliana* [22]. Później, u tej samej rośliny, odkryto RAN1, pompę metalową przenoszącą do pęcherzyków systemu wydzielniczego miedź, niezbędną do syntezy funkcjonalnie czynnych receptorów etylenu [23]. Wykorzystanie nowoczesnych metod biologii molekularnej oraz wyników badań prowadzonych na bakteriach, drożdżach i zwierzętach umożliwiło w ostatnich latach identyfikację licznych genów, kodujących pompy metalowe u roślin: rzodkiewnika (osiem), ryżu (dziewięć), jęczmienia (dziesięć), tobołków, kukurydzy i glonów. W podrodzynie tych białek wyodrębniono dwie grupy: pierwsza grupa obejmuje ATPazy transportujące metale jednowartościowe Cu/Ag; druga przenosi przez błony jony dwuwartościowe Zn/Cd/Pb/Co [2]. Co ciekawe, tylko prokarioty i fotosyntetyzujące eukarioty mają drugą podgrupę P_{1B}-ATPaz. Przypuszcza się, że rośliny mogły nabyć geny kodujące te białka w wyniku horyzontalnego transferu genów od prokariotycznego endosymbionta, który dał początek plastydom [23]. Stosunkowo duża liczba genów kodujących metalowe ATPazy u roślin wyższych sugeruje, że białka tej podrodziny mogą być zróżnicowane zarówno pod względem pełnionej funkcji, jak i miejsca występowania w komórce. Na rycinie 1 przedstawiono prawdopodobne wewnątrzkomórkowe rozmieszczenie roślinnych P_{1B}-ATPaz.

STRUKTURA P_{1B}-ATPaz.

Jako białka należące do większej rodziny P-ATPaz, pompy metalowe mają domeny charakterystyczne dla tej grupy białek, jak również fragmenty specyficzne tylko dla swojej podgrupy. Przypuszcza się, że P_{1B}-ATPazy mają 8 domen transbłonowych, podczas gdy Ca-ATPazy, należące do tej samej rodziny, mają ich 10 [12]. W strukturze Ca-ATPaz występują dwie pętle skierowane do cytoplazmy: mała, między helisami 2 i 3, oraz duża, między helisami 4 i 5. Podobnie jest u P_{1B}-ATPaz z tą różnicą, że mała pętla oddziela helisy 4 i 5, a duża 6 i 7 (ryc. 2). U wszystkich P-ATPaz, włączając pompy metalowe, występuje domena P, składająca się z trzech charakterystycznych motywów: motywu DKTGT(LIVM)(TIS), zawierającego resztę asparaginianową podlegającą fosforylacji podczas wiązania ATP, motywu GDGxNDxP, który może wiązać Mg²⁺, oraz motywu PxxK, który może wchodzić w interakcję z tlenem pochodzącym od reszty fosforanowej ATP [23]. Również domena A, zawierająca specyficzny motyw S/TGE, który prawdopodobnie reguluje stan otwarcia/zamknięcia pomp ATPazowych, jest obecna w pompach metalowych [23]. Natomiast cechą charakterystyczną tylko dla P_{1B}-ATPaz jest obecność dwóch specyficznych elementów strukturalnych [23]:

1. motywu CPx w transbłonowej domenie 6 (cysteina-prolina-histydyna/cysteina/se-ryna), który uczestniczy w transporcie metali przez błonę komórkową;



RYCINA 1. Przewidywane wewnątrzkomórkowe rozmieszczenie białek z rodziny P_{1B} -ATPaz (wg Williams i Mills [23], zmodyfikowane): Uproszczona komórka zawiera wakuolę (W), aparat Golgiego (AG), jądro (J), chloroplast (CHL) i mitochondrium (M), otoczone zewnętrzną błoną komórkową (PM). Zaproponowano następujące funkcje dla poszczególnych białek: HMA6 i HMA8 transportują Cu do stromy i światła tylakoidów, gdzie metal wbudowywany jest w metaloproteiny (Cu/Zn dysmutazę nadtlenkową, plastocyaninę) [1]; Hma7 transportuje Cu do cystern aparatów Golgiego, gdzie metal używany jest do syntezy funkcjonalnie czynnego receptora etylenu ETR1 [9]; Hma2 i Hma4 usuwają nadmiar Cu i Zn do apoplastu, biorąc udział w detoksykacji komórki [12, 21]; Hma1 może dostarczać Zn do chloroplastów, natomiast Hma3 i Hma5 mogą uczestniczyć w detoksykacji komórki z Pb i Cd (Hma3) oraz Cu (Hma5), w warunkach zwiększonego stężenia tych metali w środowisku [23]

- locus HP; obecne tu konserwatywne reszty histydynowe i glutaminianowe mogą współtworzyć miejsce wiążące ATP.

Poza tym, w obrębie odcinków N- i C-końcowych P_{1B} -ATPaz występują specyficzne domeny wiążące jony metali. Należą tu: domena HMA (*Heavy-Metal Associated*) z charakterystycznym motywem CxxC (od której przyjęto obecnie stosowane nazewnictwo dla roślinnych pomp metalowych) oraz regiony bogate w reszty histydynowe i cysteinowe [23]. Z pozostałych właściwości strukturalnych odróżniających P_{1B} -ATPazy od reszty P-ATPaz należy wymienić krótszą i bardziej zmienną domenę wiążącą nukleotydy oraz znacznie krótszy region, oddzielający odcinki DKTGT i GDGxNDxP w domenie P [23].

FIZJOLOGICZNA ROLA P_{1B} -ATPaz U ROŚLIN

Badania nad modelową rośliną *Arabidopsis thaliana* przybliżyły znaczenie pomp metalowych w transporcie i utrzymywaniu homeostazy metali ciężkich u roślin. *Arabidopsis* ma 8 P_{1B} -ATPaz: AtHMA1-AtHMA5, AtHMA6 (znana także jako PAA1), AtHMA7 (znana także jako RAN1) i AtHMA8 (znana także jako PAA2). Są

Zn/Cu-dysmutazy nadtlenkowej lub przeniesiona dalej, do światła tylakoidów. Za ten drugi proces odpowiada pompa AtHMA8/PAA2, związana z systemem błon tylakoidowych. W tylakoidach Cu wbudowywana jest w plastocyaninę. AtHMA6/PAA1 występuje zarówno w pędach, jak i w korzeniach, może więc funkcjonować w zielonych i niezielonych plastydach [1]. AtHMA8/PAA2 obecna jest tylko w pędach, a więc może być aktywna tylko w fotosyntetyzujących chloroplastach [1]. Mutacja w obydwu genach kodujących te białka jest letalna dla *Arabidopsis*, co dowodzi ogromnego znaczenia obydwu pomp metalowych dla życia rośliny [1].

Ciekawym odkryciem ostatnich lat jest możliwa interakcja pomiędzy P_{1B} -ATPazami i metalochaperonami – wolnymi białkami przenoszącymi metale wewnątrz komórki. Wykazano, że dwie pompy metalowe sinicy *Synechocystis*, CtaA i PacS, odpowiadają za dostarczanie Cu do syntezy plastocyaniny [20]. Pompa CtaA transportuje Cu do komórki, gdzie metal przyłączany jest do metalochaperonu Atx1. Następnie, Atx1 przenosi Cu do pompy PacS, transportującej metal do światła tylakoidów [20]. U *Arabidopsis* zidentyfikowano niedawno białko chloroplastowe o charakterze metalochaperonu, AtCCS1, które może być funkcjonalnym homologiem Atx1 [23]. Można przypuszczać, że roślinne pompy AtHMA6/PAA1 i AtHMA8/PAA2 funkcjonują podobnie jak sinicowe białka CtaA i PacS [20], z pośrednictwem chloroplastowego metalochaperonu AtCCS1 [23]. Nie ma jednak dowodów na interakcję AtCCS1 z chloroplastowymi P_{1B} -ATPazami. Chociaż postuluje się istnienie większej liczby metalochaperonów u roślin, jak dotąd zidentyfikowano niewiele białek tego typu u *A. thaliana* (np. AtCCH1 i AtCOX170) [4,17].

Pompa metalowa AtHMA7/RAN1 była pierwszą roślinną P_{1B} -ATPazą, którą opisano pod względem funkcjonalnym [9]. Tak jak AtHMA6/PAA1 i AtHMA8/PAA2, pompa ta również uczestniczy w dostarczaniu miedzi do białek, których aktywność zależy od obecności tego metalu [9]. Pod względem budowy pompa AtHMA7/RAN1 przypomina pompy miedziowe występujące u drożdży (CCC2) i człowieka (ATP7A i ATP7B) [9]. Wydaje się, że szlaki transportu miedzi z udziałem roślinnej AtHMA7/RAN1 i drożdżowej CCC2 są podobne. Obydwie pompy występują w błonach pęcherzyków Golgiego. Prawdopodobnie białko o charakterze metalochaperonu dostarcza Cu, obecną w cytoplazmie, do pomp metalowych systemu pęcherzyków Golgiego, a te z kolei przenoszą metal do światła pęcherzyków [9]. Tutaj metal może być wykorzystywany do syntezy receptora etylenu ETR1 [9]. Obecność miedzi w homodimerze ETR1 warunkuje wysokie powinowactwo receptora do etylenu [15]. Jednakże dowody na obecność AtHMA7/RAN1 w pęcherzykach Golgiego i udział tego białka w transporcie miedzi do pęcherzyków nie są wystarczające. Doświadczenia z mutantami upośledzonymi pod względem ekspresji AtHMA7/RAN1 wskazują, że białko to może być także zaangażowane we wzrost komórki, bowiem mutanty *AtHMA7/RAN1* były letalne na poziomie rozety [23]. W procesie starzenia zmienia się ekspresja genu kodującego AtHMA7/RAN1, co może wskazywać na udział pompy w mobilizacji miedzi ze starzejących się liści [10].

AtHMA4 była pierwszą pompą metalową z podgrupy Zn/Cd/Co/Pb, której funkcję określono poprzez heterologiczną ekspresję tego białka u drożdży i bakterii [12].

Wykazano wówczas prawdopodobny udział tej pompy w wydalaniu Zn przez plazmolemę do apoplastu [12, 13]. Podobną rolę spełniała kolejna pompa należąca do tej samej podgrupy, AtHMA2 [7, 23]. Mutanty *Arabidopsis* z zaburzeniami w biosyntezie AtHMA2 i AtHMA4 cechowały się karłowatością i chlorozami [11]. Objawy te ustępowały, gdy zaopatrzone mutanty w takie stężenia cynku, które dla zdrowych roślin są toksyczne [11]. Opisane cechy fenotypowe objawiały się tylko u roślin z podwójną mutacją genów kodujących AtHMA2 i AtHMA4, co sugeruje, że białka te uzupełniają się wzajemnie pod względem funkcji pełnionej w komórkach [11]. Podwójne mutanty gromadziły duże ilości Zn w korzeniach, ale nie w pędach [11]. Wykazano, że pompa metalowa AtHMA4 występuje w komórkach walca osiowego otaczających układ wiązek przewodzących korzenia [21]. W związku z tym przypuszcza się, że AtHMA4 w korzeniu może odpowiadać za transport Zn z komórek miękiszowych otaczających naczynia do naczyń [21]. Rezultaty badań, wykazujące obecność AtHMA2 w zewnętrznej błonie komórkowej, pozwalają przypuszczać, że białko to także bierze udział w międzykomórkowym transporcie metali [11]. Uczestnicząc w załadunku cynku do naczyń, białka AtHMA4 i AtHMA2 mogą regulować daleki transport metalu do pędów. Białka te zidentyfikowano także w tkankach floemu (gdzie mogą odpowiadać za załadunek lub rozładunek tej tkanki z Zn), w rozwijających się pręcikach i w podstawie kształtujących się łuszczynek (gdzie mogą uczestniczyć w zaopatrzeniu nasion w Zn) [23].

Udział w zaopatrywaniu roślin w niezbędne metale to nie jedyna funkcja pełniona przez AtHMA4. Badania na drożdżach wykazały, że pompa ta może transportować zarówno Zn, jak i Cd [12, 13]. Mutant *Arabidopsis*, niezdolny do syntezy AtHMA4, cechował się, w porównaniu z dzikim typem, znacznym zahamowaniem wzrostu w warunkach nadmiaru Zn i Cd w środowisku [13]. Natomiast nadekspresja genu kodującego AtHMA4 u *Arabidopsis* powodowała zwiększoną tolerancję rośliny na Co [12, 21]. Powyższe doniesienia wskazują na możliwy udział AtHMA4 w detoksykacji komórek roślinnych z nadmiaru Zn, Cd i Co.

Podobną rolę może spełniać AtHMA3, kolejna pompa metalowa z podgrupy Zn/Cd/Co/Pb, przy czym mechanizm jej działania prawdopodobnie polega na usuwaniu nadmiaru Cd i Pb do wakuoli [8]. Jakkolwiek doniesienia o występowaniu tego białka w tonoplaście pochodzą tylko z badań na drożdżach i niezbędne jest wykazanie obecności AtHMA3 w wakuolach *Arabidopsis*.

Natomiast pompa metalowa AtHMA5 może uczestniczyć w usuwaniu nadmiaru Cu przez zewnętrzną błonę komórkową do apoplastu [23]. Mutanty *Arabidopsis* z wyłączoną ekspresją genu kodującego tę pompę wykazują nadwrażliwość na Cu [23]. Jakkolwiek nie ma dotąd badań, które wskazywałyby na występowanie AtHMA5 w plazmolemie.

Ponieważ dowiedziono udziału P_{1B}-ATPaz w detoksykacji komórek roślinnych z nadmiaru metali ciężkich, wydaje się, że białka te mają kluczowe znaczenie dla roślin, które doskonale rosną na glebach zanieczyszczonych metalami. Do takich roślinnych hyperakumulatorów należy *Thlaspi caerulescens*, gatunek gromadzący toksyczne stężenia Zn i Cd w pędach. Wykazano, że pompa metalowa AtHMA4, odpowiednik AtHMA4 u *A. thaliana*, transportuje jony cynku i kadmu. Ponadto, ekspresja genu kodującego pompę jest wzmocniona w obecności tych metali w środowisku [14]. Gen

TcHMA4 ulega ekspresji tylko w korzeniach *Thlaspi caerulescens*, przy czym poziom syntezy mRNA jest wyższy niż w przypadku genu *AtHMA4* u *Arabidopsis*. Prawdopodobnie metale, transportowane przez pompę *TcHMA4* do naczyń korzenia, przemieszczają się następnie do pędów, gdzie są akumulowane w większych ilościach [14]. Ponieważ nadekspresja *AtHMA4* prowadzi do nagromadzenia Cd i Zn w liściach *Arabidopsis* [21], uważa się, że zarówno *AtHMA4*, jak i *TcHMA4* odpowiadają za daleki transport metali do części nadziemnych rośliny. Z drugiej strony zaobserwowano wzmożoną ekspresję genu *TcHMA4* w warunkach niedoboru Zn w środowisku [14]. W związku z tym funkcja *TcHMA4* obejmowałaby nie tylko detoksykację komórek z nadmiaru Zn, ale również utrzymywanie homeostazy Zn w pędach, co z kolei umożliwia roślinie reprodukcję w warunkach stresowych [14]. Podobnie jak *Thlaspi caerulescens*, inny hyperakumulator – *Arabidopsis halleri* wykorzystuje pompy metalowe do utrzymania względnej homeostazy metalowej w komórkach. Wykazano, że poziom ekspresji *AtHMA3* jest znacznie wyższy u *A. halleri* niż u *A. thaliana* w warunkach zarówno małej, jak i dużej podaży cynku [5]. Konstytutywnie silna ekspresja tego genu może odpowiadać za tolerancję *A. halleri* na stres spowodowany nadmiarem lub niedoborem Zn w środowisku [14].

Dotychczasowe dowody i przypuszczenia dotyczące specyficzności substratowej roślinnych P_{1B}-ATPaz zebrano w tabeli 1.

TABELA 1. Podział wybranych P_{1B}-ATPaz u roślin i glonów pod względem transportowanych metali

P _{1B} -ATPazy	Transportowane metale
AtHMA5, AtHMA6, AtHMA7, AtHMA8, OsHMA4, OsHMA9, CmHMA2, CrHMA2, CrHMA3, BnRAN1, ZmQ6JAH7, SbQ6JAG2, SbQ6JAG3, HvHMA4, HvHMA5, HvHMA8	Cu ⁺ /Ag ⁺
AtHMA2, AtHMA3, AtHMA4, OsHMA2, OsHMA3, TcHMA4, HvHMA2, HvHMA3	Zn ²⁺ /Cd ²⁺ /Pb ²⁺
AtHMA1, OsHMA1, CrHMA1, CmHMA1, HvHMA1, HvHMA10, GmO22498	Co ²⁺ /Zn ²⁺ /Cd ²⁺ /Pb ²⁺

Numerzy dostępu sekwencji w banku genów: dla *Arabidopsis thaliana*: AtHMA4, O64474; AtHMA2, Q9SZW4; AtHMA3, Q9SZW5; AtHMA1, Q5JZZ1; AtHMA5, Q9SH30; AtHMA6, Q9SZC9; AtHMA7, Q9S7J8; AtHMA8, Q7YO51; dla *Oryza sativa*: OsHMA1, PlantsT 64489; OsHMA2, PlantsT 64494, OsHMA3, PlantsT 4499; OsHMA4, PlantsT 64504; OsHMA5, PlantsT 64509; OsHMA6, BAD25508.1; OsHMA7, PlantsT 4519; OsHMA8, PlantsT 64524; OsHMA9 [16]; dla *Thlaspi caerulescens*: TcHMA4, Q70LF4; BnRAN1, 941L1. Numerzy dostępu dla genów *Glycine max*, *Zea mays* i *Sorghum bicolor* odpowiadają podanym w tabelce. Numerzy dostępu dla genów *Chlamydomonas reinhardtii* i *Ch. merolae*: CrHMA1_10220; CrHMA2, C_650007; CrHMA3, C_260147; CmHMA1, CMS330C; CmHMA2, CMP215C. Sekwencje zidentyfikowane u *Hordeum vulgare* zamieszczone w [23]

PODSUMOWANIE

W organizmach roślinnych zidentyfikowano znacznie więcej białek należących do podrodziny P_{1B}-ATPaz w porównaniu z drożdżami i komórkami zwierzęcymi, co wskazywałoby, że u roślin białka te pełnią zróżnicowane funkcje występując w różnych kompartmentach komórki, tkankach i organach. Coraz więcej doniesień na temat pierwotnych pomp metalowych u *Arabidopsis* opisuje ich udział w dostarczaniu niezbędnych metali do poszczególnych przedziałów komórkowych czy organów. Z drugiej strony, w pracach na mutantach *Arabidopsis* i transformowanych drożdżach potwierdzono rolę P_{1B}-ATPaz w usuwaniu nadmiaru metali do apoplastu lub wakuoli. Jakkolwiek do tej pory nie potrafimy odpowiedzieć na szereg istotnych pytań dotyczących precyzyjnego rozmieszczenia poszczególnych P_{1B}-ATPaz w komórkach i tkankach roślinnych, mechanizmów ich regulacji i specyficzności substratowej. Pojawiły się pierwsze doniesienia dotyczące identyfikacji genów kodujących pompy metalowe u roślin jednoliściennych: kukurydzy, soi i jęczmienia. W związku z tym przypuszcza się, że są to białka powszechne i homologicznie funkcjonalne u wszystkich roślin wyższych. Niewątpliwie są to transportery o bardzo istotnym znaczeniu dla życia roślin, ich prawidłowego wzrostu, rozwoju i rozmnażania, przez co badania prowadzone w kierunku ich poznania uległy znacznej intensyfikacji w ostatnich latach. Bardzo efektywnie spełniają swoją rolę u metalofitów, umożliwiając im przeżycie w środowisku skrajnie zanieczyszczonym metalami. Poznanie dokładnych mechanizmów działania i regulacji pomp metalowych u tych roślin może zaowocować w przyszłości wyprodukowaniem specjalnie skonstruowanych genetycznie gatunków, opornych na wysokie stężenia metali bądź akumulujących metale ciężkie w tkankach, a przez to oczyszczających skażone nimi gleby.

LITERATURA

- [1] ABDEL-GHANY SE, MULLER-MOULE P, NIYOGI KK, PILON M, SHIKANAI T. Two P-Type ATPases are required for copper delivery in *Arabidopsis thaliana* chloroplasts. *Plant Cell* 2005; **17**: 1233–1251.
- [2] ARNESANO F, BANCIL L, BERTINI I, CIOFI-BAFFONI S, MOLTENI E, HUFFMAN DL, O'HALLORAN TV. Metalochaperones and metal-transporting ATPases: a comparative analysis of sequences and structures. *Genome Res* 2002, **12**: 255–271.
- [3] AXELSEN KB, PALMGREN MG. Evolution of substrate specificities in the P-type ATPase superfamily. *J Mol Evol* 1998; **46**: 84–101.
- [4] BALANDIN T, CASTRESANA C. AtCOX17, an *Arabidopsis* homolog of the yeast copper chaperone COX17. *Plant Physiol* 2002; **129**: 1852–1857.
- [5] BECHER M, TALKE IN, KRALL L, KRAMER U. Cross-species microarray transcript profiling reveals high constitutive expression of metal homeostasis genes in shoots of the zinc hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Plant J* 2004; **37**: 251–268.
- [6] COX DW, MOORE SDP. Copper transporting P-type ATPases and Human Disease. *J of Bioenerg and Biomem* 2002; **34**: 333–338.
- [7] EREN E, ARGUELLO JM. *Arabidopsis* HMA2, a divalent heavy metal-transporting P_{1B}-type ATPase, is involved in cytoplasmic Zn²⁺ homeostasis. *Plant Physiol* 2004; **136**: 3712–3723.

- [8] GRAVOT A, LIEUTAUT A, VERRET F, AUROY P, VAVASSEUR A, RICHAUD P. AtHMA3, a plant P1B)-ATPase, functions as a Cd/Pb transporter in yeast. *FEBS Lett* 2004; **561**: 22–29.
- [9] HALL JL, WILLIAMS LE. Transition metal transporters in plants. *J Exp Biol* 2003, **54**: 2601–2613.
- [10] HIMELBLAU E, AMASINO RM. Nutrients mobilized from leaves of *Arabidopsis thaliana* during senescence. *J Plant Physiol* 2001; **158**: 1317–1323.
- [11] HUSSEIND, HAYDON MJ, WANG Y, WONG E, SHERSON SS, YOUNG J, CAMAKARIS J, HARPER JF, COBBETT CS. P-type ATPase heavy metal transporters with roles in essential zinc homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2004; **16**: 1327–1339.
- [12] MILLS RF, KRIJGER GC, BACCARINI PJ, HALL JL, WILLIAMS LE. Functional expression of AtHMA4, a P1B-type ATPase of the Zn/Co/Cd/Pb subclass. *Plant J* 2003; **35**: 164–176.
- [13] MILLS RF, FRANCINI A, FERREIRA DA ROCHA PSC, BACCARINI PJ, AYLETT M, KRIJGER GC, WILLIAMS LE. The plant P1B-type ATPase AtHMA4 transports Zn and Cd and plays a role in detoxification of transition metals supplied at elevated levels. *FEBS Lett* 2004; **579**: 783–791.
- [14] PAPOYAN A, KOCHIAN LW. Identification of *Thlaspi caerulescens* genes that may be involved in heavy metal hyperaccumulation and tolerance: Characterization of a novel heavy metal transporting ATPase. *Plant Physiol* 2004; **136**: 3814–3823.
- [15] RODRIQUEZ F, ESCH J, HALL A, BINDER B, SCHALLER GE, BLEECKER AB. A copper cofactor for the ETR1 receptor from *Arabidopsis*. *Science* 1999; **283**: 996–998.
- [16] ROSAKIS A, KOSTER W. Transition metal transport in the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii* – genomic sequence analysis. *Res Microbiol* 2004; **155**: 201–210.
- [17] RUTHERFORD JS, BIRD AJ. Metal-responsive transcription factors that regulate iron, zinc, and copper homeostasis in eukaryotic cells. *Eukaryot Cell* 2004; **3(1)**: 1–13.
- [18] SOLIOZ M, VULPE C. CPx-type ATPases that pump heavy metals. *Trends Biochem* 1996; **21**: 237–241.
- [19] SHIKANAI T, MULLER-MOULE P, MUNEKAGE Y, NIYOGI KK, PILON M. PAA1, a P-type ATPase of *Arabidopsis* functions in copper transport in chloroplast. *Plant Cell* 2003; **15**: 1333–1346.
- [20] TOTTEY S, RONDET SAM, BORRELLY GPM, RICH PR, ROBINSON NJ. A copper metallochaperone for photosynthesis and respiration reveals metal-specific targets, interaction with an importer and alternative sites for copper acquisition. *J Biol Chem* 2002; **277**: 5490–5497.
- [21] VERRET F, GRAVOT A, AUROY P, LEONHARDT N, DAVID P, NUSSAUME L, VAVASSEUR A, RICHAUD P. Overexpression of AtHMA4 enhances root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant metal tolerance. *FEBS Lett* 2004; **576**: 306–312.
- [22] WILLIAMS LE, PITTMAN JK, HALL JL. Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochim Biophys Acta* 2000; **1465**: 104–126.
- [23] WILLIAMS LE, MILLS RF. P1B-ATPases – an ancient family of transition metal pumps with diverse functions in plants. *Trends Plant Sci* 2005; **10**: 491–502.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 13.06. 2006 r.

Przyjęto: 06.09. 2006 r.

ul. Kanonia 6/8, 50-328 Wrocław,

mmigocka@biol.uni.wroc.pl