

## ROŚLINNA PIROFOSFORYLAZA UDP-GLUKOZY – ENZYM NIEDOCENIANY

### PLANT'S UDP-GLUCOSE PYROPHOSPHORYLASE – AN UNDERESTIMATED ENZYME

Edyta ŁUKASZUK, Iwona CIERESZKO

Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku

*Streszczenie:* Pirofosforylaza UDP-glukozy (UGPa) jest enzymem powszechnie występującym u roślin i odgrywa kluczową rolę w wielu procesach związanych z metabolizmem cukrowców oraz ich pochodnych w komórkach roślinnych. Enzym ten katalizuje odwracalną reakcję syntezy UDP-glukozy i pirofosforanu nieorganicznego (PPi) z glukozo-1-fosforanu i UTP. UDP-glukoza jest prekursorem wielu cukrowców i ich pochodnych, takich jak: sacharoza, skrobia, pektyny, celuloza. Z kolei drugim produktem aktywności UGPazy jest PPi, jako alternatywne do ATP źródło energii dostarczające wolnego Pi. Największą aktywność UGPazy zaobserwowano głównie w cytozolu. W dojrzałych liściach UGPaza jest enzymem uczestniczącym w syntezie sacharozy i innych cukrowców (przy współpracy syntazy sacharozofosforanowej). W młodych liściach i niefotosyntetyzujących tkankach bierze udział w rozkładzie sacharozy (przy udziale syntazy sacharozy). Ostatnie doniesienia wskazują także na rolę UGPazy w rozwoju bielma nasion i pyłku oraz biosyntezie sulfolipidów w chloroplastach. UGPaza zaangażowana jest również w proces określany jako „cold sweetening” występujący w bulwach ziemniaków (niekorzystny dla przetwórstwa spożywczego). Na aktywność UGPazy wpływa wiele czynników zarówno wewnętrznych, jak i zewnętrznych. Oligomeryzacja enzymu stanowi wewnętrzny czynnik regulujący aktywność enzymu. Zaobserwowano, że aktywną formą enzymu w komórkach roślinnych jest monomer, jakkolwiek UGPaza może występować także w innych formach. Uwarunkowania zewnętrzne, takie jak: światło, temperatura, składniki odżywcze, np. fosfor, żelazo, a także dostępność specyficznych związków, np. sacharozy, mannozy, kwasu okadaikowego, zmieniają zarówno ekspresję genów, jak i zawartość białka UGPazy. Warunki stresowe wyraźnie zmieniają ekspresję genów *Ugp* i aktywność enzymatyczną UGPazy oraz regulują procesy syntezy/rozkładu sacharozy i innych cukrowców. Zaobserwowano, że redukcja aktywności UGPazy może powodować zmniejszenie zawartości cukrów. Takie modyfikacje w metabolizmie cukrowców są niezbędne dla zdolności przystosowawczych rośliny do zmieniających się warunków środowiska. Z tego powodu UGPaza, która do niedawna uznawana była za enzym niespełniający kontrolnej roli w metabolizmie cukrowców, zyskała na znaczeniu. W ostatnich latach nastąpiło poszerzenie wiedzy na temat pirofosforylazy UDP-glukozy, a zwłaszcza kontroli ekspresji genów kodujących omawiany enzym, struktury białka i regulacji aktywności enzymu pod wpływem różnych czynników stresowych. Prezentowana praca ma na celu krótką charakterystykę pirofosforylazy UDP-glukozy i przedstawienie roli enzymu w procesach metabolicznych zachodzących w komórce roślinnej.

*Słowa kluczowe:* pirofosforylaza UDP-glukozy, ekspresja genów, UDP-glukoza, metabolizm sacharozy, warunki stresowe.

*Summary:* UDP-glucose pyrophosphorylase is a common plant enzyme and plays a key role in many processes connected with carbohydrates metabolism in plant tissues. This enzyme catalyse the reversible reaction of synthesis/degradation of UDP-glucose and inorganic pyrophosphate from glucose-1-phosphate and UTP. UDP-glucose is the precursor of many carbohydrates like sucrose, starch, pectin, cellulose. The second product of UGPase activity is PPi, the alternative to ATP energy donor which supply Pi. The highest activity of UGPase was observed in cytosol. In mature leaves UGPase takes part in synthesis of sucrose and other carbohydrates (in cooperation with sucrose phosphate synthase). In sink tissues UGPase cooperates with sucrose hydrolytic enzyme – sucrose synthase in sucrose degradation. It seems that it also plays an important role in endosperm development and sulfolipids biosynthesis in chloroplasts. UGPase plays role in cold sweetening of potato tubers, which were stored in cold temperature, and that process is unfavourable in food industry. There are many external and internal factors, which have an influence on UGPase genes expression and activity. Oligomerization is an internal factor. UGPase could occur in few forms but only monomer is an active form in plant tissues. External factors include environmental condition such as light, temperature, nutrient (phosphorus, iron) and other factors like availability of sucrose, mannose or okadaic acid. Stress conditions significantly change expression of UGPase genes, enzyme activity and regulate sucrose and the other carbohydrates synthesis/degradation. It was observed that reduction of UGPase activity had an visibly influence on sugars content. Such modification in carbohydrates metabolism are essential to plant acclimatisation in changing environmental conditions. That is the reason, why UGPase which was not perceived as an important enzyme in carbohydrates metabolism, takes the value. In last few years the knowledge about UGPase has increased – especially about control of genes expression, protein structure and enzyme activity regulation. This review presents short description of role of UDP-glucose pyrophosphorylase in metabolic processes in plant tissues.

*Key words:* UDP-glucose pyrophosphorylase, gene expression, UDP-glucose, sucrose metabolism, stress conditions.

## 1. WSTĘP

Pirofosforylaza UDP-glukozy – UGPaza (urydylotransferaza glukozo-fosforanowa, UTP:  $\alpha$ -D-glukozo-1-fosfourdynotransferaza, EC 2.7.7.9) katalizuje odwracalną reakcję syntezy urydynodifosforanu glukozy (UDP-glukozy) i pirofosforanu nieorganicznego (PPi) [9, 12, 23, 50, 70]. Reakcja ta zachodzi w komórkach roślinnych podczas przekształcania triozofosforanów powstałych w procesie fotosyntezy (ryc.1) do cukrów złożonych i przebiega według schematu:



UDP-glukoza stanowi kluczowy związek metabolizmu węglowodanowego, początek wielu dróg syntezy cukrowców i ich pochodnych [34]. Zsyntetyzowana UDP-glukoza może być wykorzystana do tworzenia innych cukrów lub połączeń cukrów z białkami w metabolizmie sacharozy, skrobi, kalozy i innych związków niezbędnych podczas wzrostu i rozwoju roślin [33, 35, 73]. Drugi produkt – PPi odpowiedzialny jest w głównej mierze za magazynowanie i przenoszenie energii metabolicznej [18, 72]. Aktywność pirofosforylazy UDP-glukozy wykryto w większości tkanek, komórek i organelli roślinnych. UGPaza była do niedawna uważana za enzym występujący zawsze w nadmiarze i niespełniający istotnej funkcji w kontroli przepływu zasymilowanego węgla w kierunku syntezy sacharozy lub innych cukrowców [34]. Ostatnie badania

wskazują, że produkty reakcji katalizowanej przez UGPazę pełnią kluczową rolę w metabolizmie cukrowców. Do tej pory w największym stopniu prowadzono badania nad rolą UGPazy w metabolizmie cukrowców w bulwach ziemniaków przechowywanych w niskich temperaturach, gdzie zachodzi zjawisko określane jako „cold sweetening” lub „cold-induced sweetening” [48, 55, 70].

Obecne zainteresowanie pirofosforylaza UDP-glukozy wynika z poszerzenia wiedzy na temat regulacyjnej roli UGPazy i jej wpływu na metabolizm cukrowców u roślin. Szczególnie interesująca jest zdolność przystosowania UGPazy do zmieniających się warunków poprzez zmianę ekspresji genów oraz modyfikacje aktywności enzymatycznej i zawartości białka. W ostatnich latach nastąpiło poszerzenie wiedzy na temat mechanizmów regulujących ekspresję genów *Ugp* na poziomie transkrypcyjnym i potranslacyjnym oraz regulacji aktywności enzymatycznej zarówno w warunkach normalnych, jak i w warunkach stresów środowiskowych.

## 2. LOKALIZACJA BIAŁKA ENZYMATYCZNEGO UGPazy

Pirofosforylaza UDP-glukozy występuje głównie w cytozolu komórek. Obecność tego białka wykryto również we frakcjach błon komórkowych, retikulum endoplazmatycznym, strukturach Golgiego i amyloplastach. Białko UGPazy zlokalizowano w tkankach przewodzących, zwłaszcza we floemie, w miękiszu palisadowym i gąbczastym [1, 34]. Aktywność UGPazy wykryto w liściach, korzeniach, bulwach, rozłogach, a także we włoskach pokrywających epidermę i w rozwijających się nasionach [8, 10, 20, 34, 51, 52, 65]. Pirofosforylaza UDP-glukozy została wyizolowana z wielu roślin, m.in. rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana* L.), ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.), topoli (*Populus tremula* L.), ryżu (*Oryza sativa* L.), cebuli zwyczajnej (*Allium cepa* L.), kukurydzy zwyczajnej (*Zea mays* L.), gasterii brodawkowej (*Gasteria verrucosa* Mill.), soi (*Glycine* sp. L.), jęczmienia (*Hordeum* sp.L.), fasoli (*Phaseolus* sp. L.), petunii (*Petunia* sp. L.) [7, 11, 28, 29, 52, 65, 71].

## 3. STRUKTURA CZĄSTECZKI PIROFOSFORYLAZY UDP-GLUKOZY

Roślinna pirofosforylaza UDP-glukozy może występować w formie monomeru, dimeru, jak i polimeru, przy czym jedynie monomer stanowi aktywną formę enzymu [21, 47, 49, 50]. Z kolei UGPaza wyizolowana z komórek zwierzęcych i drożdży przyjmuje obok formy monomerycznej i dimerycznej, również formę oktameru i u drożdży forma ta jest również aktywna [47, 60].

UGPaza jest białkiem o masie molekularnej 50–55 kDa [2, 34]. Masa białka waha się w tych granicach w zależności od gatunku rośliny np. u *Arabidopsis* 51–53 kDa, u topoli 51 kDa, u ziemniaka 53 kDa [50, 52, 71]. Niewielkie różnice w masie występują także w obrębie jednej rośliny, np. pirofosforylaza UDP-glukozy

wyzolowana z liści *Arabidopsis* ma mniejszą masę niż ta, którą otrzymano z tkanek niefotosyntetyzujących, np. korzeni [29, 50, 53]. Prawdopodobnie różnice w wielkości enzymu wynikają z ufosforylowania albo procesu glikozylacji białka [29, 53].

Pirofosforylaza UDP-glukozy wyizolowana z jęczmienia złożona jest z domen: N-końcowej, C-końcowej i centralnie zlokalizowanej podjednostki katalitycznej, w której znajduje się pętla NB (ang. *Nucleotide Binding loop*) [21]. Kofaktorem niezbędnym do aktywności UGPazy jest magnez, który wiązany jest w pętli NB [21]. Na końcu pętli NB znajduje się Gly-91 oddziałująca z resztą uracylową UDP-glukozy [49]. C-końcowa domena prawdopodobnie zaangażowana w proces dimeryzacji [21]. Centrum aktywne enzymu zawiera aminokwasy, które odgrywają istotną rolę podczas aktywności katalitycznej i tworzenia kompleksu enzym - substrat [49, 57, 80]. Aminokwasy te są odmienne dla różnych gatunków roślin, np. Lys-367 u ziemniaka, natomiast u *Arabidopsis* Lys-360 i Lys-361 [47, 49, 53, 57, 77, 78, 80].

Na podstawie cDNA oszacowano, że pirofosforylaza UDP-glukozy złożona jest w przypadku rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana* L.) z 469–470 aminokwasów, natomiast u topoli (*Populus tremula* L.) z 450 aminokwasów [29, 50].

#### 4. IZOZYMY PIROFOSFORYLAZY UDP-GLUKOZY

Pirofosforylaza UDP-glukozy może występować w postaci kilku izozymów o niewielkich różnicach w sekwencji, właściwościach kinetycznych i ruchliwości elektroforetycznej [3, 23, 24, 53, 70]. Wykryto dwa izozymy u *Arabidopsis*, trzy u ziemniaka, ponadto wykryto także izozymy u soi i ryżu [3, 4, 23, 53, 70]. Podobieństwo sekwencji pomiędzy dwoma izoformami UGPazy wyizolowanej z *Arabidopsis* wynosiło 93%, a różnice dotyczyły tylko 32 aminokwasów [50, 53]. Różnice między izoenzymami zależą prawdopodobnie od ekspresji różnych alleli UGPazy i potranslacyjnych modyfikacji [23, 24, 70]. Istnienie różnych form izoenzymatycznych pozwala na precyzyjną regulację reakcji katalizowanej przez pirofosforylaze UDP-glukozy w zależności od potrzeb metabolicznych komórki i tkanki [3, 50, 53].

#### 5. REGULACJA TRANSKRYPCJI GENÓW KODUJĄCYCH UGPazę

Białko enzymatyczne UGPazy jest kodowane przez jeden, dwa lub trzy geny *Ugp* w zależności od gatunku rośliny. U ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) i jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.) występuje tylko jeden gen kodujący UGPazę [71]. U *Arabidopsis thaliana* są to dwa geny *Ugp1* i *Ugp2* (gen At3g03250 oraz At5g17310) znajdujące się na 3 i 5 chromosomie [31, 35, 52]. Ostatnie doniesienia wskazują na obecność trzeciego genu *Ugp* (At3g56040) u *Arabidopsis* [56]. U ryżu geny *Ugp* znajdują się na 9 i 2 chromosomie (gen Os09g0553200 oraz Os01g0264100) [GenBank, 28, 80]. Wykryto również dwa geny kodujące UGPazę u topoli [50]. Geny UGPazy są wysoce homologiczne – różnica pomiędzy nimi znajduje się w zasadzie tylko w

dwóch miejscach, co przekłada się na sekwencję aminokwasów w białku. Geny zawierają 19–21 egzonów i 18–20 intronów. Geny są różnej długości – *Ugp1* ma wielkość 1,77 kb, natomiast *Ugp2* 1,66 kb [29, 50, 52].

Przeprowadzone badania z użyciem mikromacierzy cDNA wskazują na niejednakową ekspresję genów *Ugp1* i *Ugp2* w tkankach i organach roślinnych [51, 52]. Zaobserwowano wyższą ekspresję *Ugp1* w ksylemie, floemie i stożku wzrostu i liściach topoli, podczas gdy *Ugp2* ulega ekspresji głównie w kwiatach i korzeniu [52]. W porównaniu z genami syntazy sacharozy – innego enzymu, który bierze udział w procesie syntezy/rozkładu sacharozy, geny *Ugp* ulegają u topoli mniejszej ekspresji z wyjątkiem liści, kwiatów i korzenia głównego. W związku z tym geny *Ugp1* w większym stopniu wpływają na formowanie ściany komórkowej niż geny *Ugp2*. Podobne wyniki otrzymano izolując geny z ryżu [3, 4, 52, 79]. Badania wskazują również na różnorodne funkcje genów *Ugp* u *A. thaliana* [51]. Ekspresja genu *Ugp1* związana jest z ekspresją genów zaangażowanych w metabolizm cukrowców oraz późnym stadium embriogenezy, natomiast *Ugp2* współdziała z genami, których ekspresja związana jest z fotosyntezą, odpowiedzią na czynniki stresowe i zapylenie kwiatu [51].

Ekspresja genów *Ugp* podlega wielostronnej regulacji przez czynniki biotyczne i abiotyczne (tab. 1) [51]. Zaobserwowano również dodatnią korelację pomiędzy ekspresją genów *Ugp* a aktywnością UGPazy [31]. Przeprowadzone badania nad rzodkiewnikiem i topolą wskazują na silnie indukujący wpływ sacharozy na ekspresję genów *Ugp* [8, 9, 10, 52]. Jest to interesujący przykład interakcji, ponieważ UGPaza uczestniczy w syntezie sacharozy, a sacharoza reguluje aktywność enzymatyczną UGPazy. Mannoza powoduje również zwiększenie ekspresji genów (jednakże w mniejszym stopniu niż sacharoza). Inne źródła węgla, takie jak: glukoza, deoksyglukoza czy mannitol, nie powodują zwiększenia ekspresji genów [7, 8, 10, 11, 50]. Zwiększeniu ekspresji genów towarzyszy zwiększenie ilości białka enzymatycznego oraz aktywności enzymatycznej [10, 50].

Badano również wpływ światła na ekspresję genów *Ugp*, zawartość białka i aktywność enzymatyczną. Światło wpływa indukująco na badane parametry, a ekspresja genu *Ugp1* jest niemal dwukrotnie wyższa niż genu *Ugp2* [10, 52]. Rośliny przetrzymywane w ciemności nie wykazują zwiększonej ekspresji genów *Ugp*, ale po podaniu sacharozy ich ekspresja była równie duża, jak u roślin rosnących na świetle, którym nie była podawana sacharoza. Na tej podstawie można wnioskować, że sacharoza może niwelować hamujący wpływ ciemności na ekspresję genów *Ugp* [10, 52]. Z kolei wysokie natężenie promieniowania niweluje stymulujący efekt sacharozy, a ekspresja *Ugp* jest zbliżona do kontroli niezależnie od dostępu cukru, prawdopodobnie na skutek nagromadzenia fotoasymilatów w liściach [9, 12].

*A. thaliana*, poddany działaniu niskiej temperatury (4°C) przez okres pięciu dni, wykazuje również zwiększoną ekspresję genów *Ugp*. Nawet jeden dzień ekspozycji na zimno powoduje zwiększenie ekspresji genów UGPazy [10]. Podobne wyniki otrzymano na podstawie badań nad topolą po siedmiu dniach ekspozycji na zimno – zaobserwowano wyraźnie zwiększoną ekspresję genu *Ugp1*, szczególnie w korzeniu

TABELA 1. Zmiany ekspresji genów *Ugp* w materiale roślinnym pod wpływem działania różnych czynników zewnętrznych (wg [7], zmienione i uzupełnione)  
 TABLE 1. Changes in expression of *Ugp* gene in plant during stress conditions (modified acc. to [7])

Czynnik	Ekspresja <i>Ugp</i>	Roślina	Literatura
Deficyt Pi	+	<i>Arabidopsis</i>	[9,8,11]
	+	Ryż	[79]
Deficyt Fe	0	<i>Arabidopsis</i>	[76]
Sacharoza (20–300 mM)	+	Topola	[52]
	+	Banan	[2]
	+	<i>Arabidopsis</i>	[9,10]
Glukoza (100 mM)	0	<i>Arabidopsis</i>	[8,10]
Mannoza (2–5 mM)	+	<i>Arabidopsis</i>	[8,9,11]
	+	Topola	[29]
Kwas okadaikowy (1–2 µM)	–	<i>Arabidopsis</i>	[10]
Etylen	0	<i>Arabidopsis</i>	[11]
	+	Banan	[2]
ABA	0	<i>Arabidopsis</i>	[10,11]
Zasolenie	0	Banan	[2]
	+	Ryż	[66]
Światło	+	<i>Arabidopsis</i>	[9]
	+	Topola	[52]
Chłód (1–10 dni)	+	<i>Arabidopsis</i>	[10]
	+	Topola	[52]
	+	Ryż	[38]
Anoksja	+	<i>Arabidopsis</i>	[10]
Susza	+	<i>Arabidopsis</i>	[10]
Zranienie	+	<i>Arabidopsis</i>	[10]

(+) indukcja; (-) obniżenie ekspresji; (0) brak efektu

i lodydze [52]. Podwyższeniu ekspresji genów towarzyszy również wzmożenie aktywności enzymatycznej oraz zwiększenie zawartości białka [10, 38, 52].

Kwas abscysynowy (ABA) jest ważnym czynnikiem sygnałowym biorącym udział w odpowiedzi roślin na działanie różnorodnych czynników stresowych, m.in. stresu spowodowanego niską temperaturą. Zbadano wpływ chłodu i ABA na ekspresję *Ugp* u rzodkiewnika [10]. Na podstawie badań stwierdzono, że sam kwas abscysynowy nie ma wpływu na indukcję *Ugp*. Badając mutanty *A. thaliana* z deficytem ABA (*aba1-5*, *aba2-1*, *aba3-1*) i po ekspozycji na niską temperaturę (5°C) zaobserwowano podobną ekspresję genów *Ugp* jak u kontroli – roślin typu dzikiego poddanych działaniu niskiej temperatury [10].

Deficyt fosforu w pożywce wywiera silnie indukujący wpływ na ekspresję *Ugp*, aktywność enzymatyczną UGPazy i zawartość białka [8, 11]. Przeprowadzono badania kultur hydroponicznych rzodkiewnika z deficytem fosforu w pożywce oraz mutantów o zmienionej gospodarce fosforanowej (*pho1* i *pho2*) [8, 9]. Stres

powodował nie tylko zwiększenie ekspresji genów i aktywności UGPazy, ale również zaburzenia w wewnątrzkomórkowej puli Pi i węglowodanów [25, 45]. Dane te zostały potwierdzone analizami mikromacierzy DNA, w których wzmożoną ekspresję genu UGPazy obserwowano w korzeniach ryżu z deficytem Pi oraz w liściach mutantu *A. thaliana pho3* o zaburzonej gospodarce fosforanowej [42, 79]. Oprócz wzmożonej ekspresji genów *Ugp*, zwiększenia zawartości i aktywności UGPazy zaobserwowano również zmiany w gospodarce węglowodanowej roślin – deficyt Pi powodował akumulację glukozy i skrobi w liściach, łodydze i kwiatach oraz sacharozy w łodydze i kwiatach *A. thaliana* [8]. Zmianom tym towarzyszyło zwiększenie ekspresji *Ugp* w liściach, a aktywność UGPazy podczas deficytu Pi we wszystkich badanych organach była wyższa w porównaniu z kontrolą [8].

Zbadano również wpływ deficytu Pi na UGPazę przy zmienionej gospodarce ABA z wykorzystaniem mutantów *aba2-1*, *aba1-5* o obniżonej zawartości/syntezie ABA oraz *aba3-1* o wyższej zawartości ABA niż u pozostałych mutantów [8, 11]. Badania te wykazały zwiększoną ekspresję genów *Ugp* u roślin rosnących na pożywce z deficytem Pi w porównaniu z mutantami *aba* u roślin rosnących na pełnych pożywkach (u których nie zaobserwowano jakiegokolwiek wpływu ABA na ekspresję *Ugp*) [8, 11].

Podobne analizy wykonano z wykorzystaniem mutantów etylenowych, u których stwierdzono, że etylen nie wywiera wpływu na ekspresję genów *Ugp* [8, 11]. Doświadczenia wykonane na bananowcu (*Musa* sp. L.) wskazują na zwiększenie zawartości UGPazy pod wpływem działania etylenu [cyt. za 2]. Może to również sugerować, że rośliny te pod wpływem zranienia również powinny wykazywać zwiększoną zawartość i ekspresję genów, ponieważ zranienie indukuje m.in. syntezę etylenu.

Deficyt żelaza nie wpływa znacząco na pirofosforylazę UDP-glukozy, mimo że zauważalny jest wzrost aktywności innych enzymów biorących udział w metabolizmie glukozy, co pokazują doświadczenia z użyciem mikromacierzy. Dotyczy to zwłaszcza takich enzymów, jak: heksokinaza (EC 2.7.1.1), izomeraza glukozo-6-fosforanu (EC 5.3.1.9) czy aldolaza fruktozo-bis-fosforanu (EC 4.1.2.13) [76]. Nie zaobserwowano indukcji ekspresji genów UGPazy lub była ona niewielka u roślin poddanych innym czynnikom stresowym, takim jak: stres osmotyczny, anoksja lub susza [7, 10, 29, 35, 50].

Kwas okadaikowy (OKA) jest inhibitorem specyficznych fosfataz białkowych: fosfatazy 1 (PP1) i fosfatazy 2A (PP2A). Specyficzne fosfatazy wpływają na aktywność innych enzymów, w tym biorących udział w metabolizmie cukrów [58, 67]. Badania nad wpływem OKA na ekspresję *Ugp* u *Arabidopsis* wskazują, że powoduje on zahamowanie ekspresji genów zarówno po egzogennym podaniu sacharozy, jak i przy deficycie fosforu w pożywce [9, 10, 35]. Z drugiej strony, OKA stymuluje ekspresję *Sus1* – genu kodującego syntezę sacharozy [8].

## 6. REGULACJA AKTYWNOŚCI UGPazy

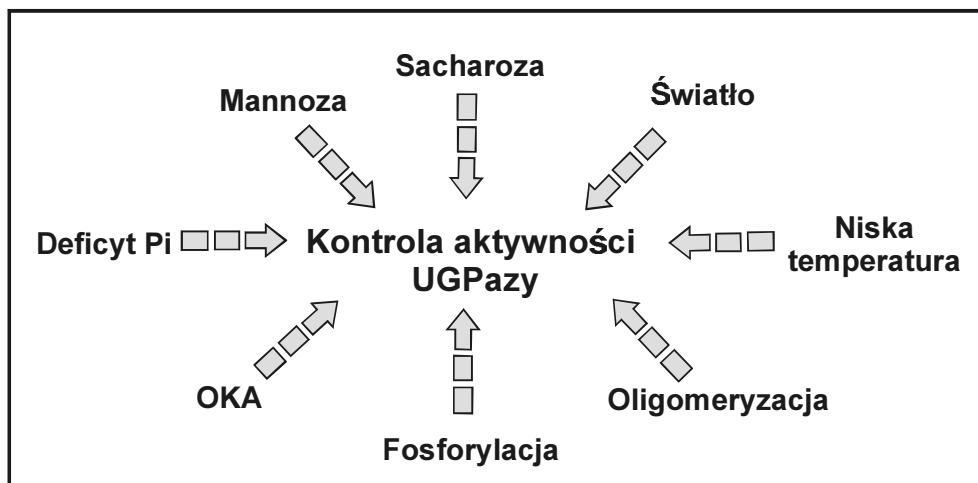
Reakcje enzymatyczne stanowią złożony układ procesów biochemicznych, na który wpływa wiele czynników fizycznych i chemicznych, takich jak: stężenie enzymu, stężenie substratu, temperatura, pH itd. Aktywność UGPazy regulowana

jest przez dostępność podstawowych substratów katalizowanych reakcji, zwłaszcza podczas syntezy sacharozy oraz niektóre czynniki stresowe (ryc. 1). Inhibitorem enzymu jest UDP-glukoza. W zależności od stężenia hamująco lub stymulująco może wpływać PPI, ATP i UTP [34]. Zatem UGPaza może samodzielnie regulować swoją aktywność przez zwiększenie lub ograniczenie syntezy UDP-glukozy i PPI [23, 34].

Reakcja syntezy/rozkładu UDP-glukozy, katalizowana przez pirofosforylase UDP-glukozy, zależy od stanu metabolicznego komórki i jest całkowicie odwracalna [7, 8, 29, 50, 53]. Zachodzi ona w obecności jonów dwuwartościowych, zwłaszcza jonów magnezu ( $Mg^{2+}$ ), które w niskich stężeniach mogą częściowo być zastąpione przez jony manganu ( $Mn^{2+}$ ) [34]. Badania nad UGPazą wyizolowaną z komórek *Escherichia coli* wskazują, że w reakcji tej biorą udział dwa jony magnezu, które przyłączają się do PPI i UTP tworząc kompleksy stanowiące substraty reakcji [77, 78]. Inhibitorem jest wolny UTP, który hamuje tworzenie kompleksów  $Mg^{2+}$  z substratami [34]. Nie zaobserwowano jednak, aby inkubacja z magnezem (1–5 mM) wpływała na oligomeryzację, a tym samym na aktywność enzymu [47].

Zasadniczym mechanizmem regulującym aktywność UGPazy jest oligomeryzacja. Formą aktywną enzymu jest monomer [24, 47, 49]. Dimeryzacja enzymu modyfikuje środowisko strukturalne miejsca aktywnego, co prowadzi do jego blokady [33]. W badaniach nad UGPazą wyizolowaną z jęczmienia stwierdzono, że oligomeryzacja zachodzi w zależności od zmian w hydrofobowości, od ilości białka i jest mechanizmem kontrolującym nie tylko aktywność enzymu, ale być może również całego szlaku biosyntezy sacharozy [35, 50, 53].

Badania właściwości i regulacji UGPazy u drożdży wykazały, że aktywność enzymu uwarunkowana jest jego fosforylacją przez kinazę Ser/Thr [34 i literatura



RYCINA 1. Kontrola aktywności enzymatycznej UGPazy w materiale roślinnym pod wpływem działania endogennych i egzogennych czynników stresowych

FIGURE 1. Control of UGPase enzymatic activity in plant during endogenic and egzogenic stress conditions



tam cytowana]. Fosforylacja powoduje zmniejszenie aktywności UGPazy. Podobne wyniki otrzymano w doświadczeniach nad szpinakiem (*Spinacia oleracea* L.) [62]. Miejscem przyłączenia kinazy Ser/Thr u szpinaku jest Ser-11. Mutacja prowadząca do zamiany seryny w alaninę powoduje znaczne zmniejszenie aktywności enzymatycznej białka [62]. Inne badania nad pirofosforylazą UDP-glukozy wskazują na najwyższą aktywność enzymu w środowisku lekko zasadowym, w pH 7,5–8,5. Z kolei u glonu *Acetabularia* aktywność enzymu podlega kontroli przez światło niebieskie [34 i literatura tam cytowana].

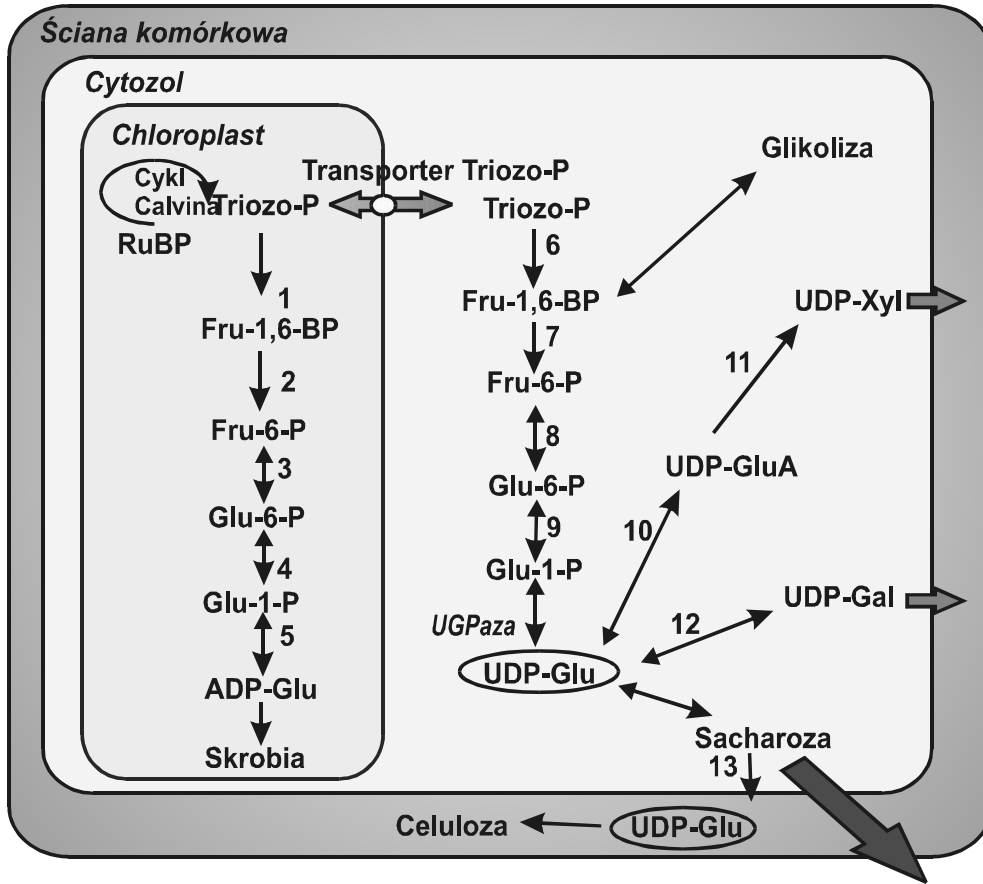
W literaturze występują różne doniesienia na temat wpływu aktywności enzymatycznej UGPazy na wzrost i metabolizm roślin. Znaczny spadek aktywności enzymatycznej nie powoduje jakichkolwiek efektów fenotypowych, może jedynie powodować zmniejszenie stężenia cukrów u *Arabidopsis* oraz w bulwach ziemniaków [cyt. za 29, 34] lub nie zmienia poziomu cukrów [50]. Zmianom aktywności pirofosforylasy UDP-glukozy towarzyszą również zmiany biomasy w przypadku tytoniu oraz zmiany w metabolizmie cukrowców tej rośliny [13, 14].

## 7. FUNKCJE UGPazy W KOMÓRKACH ROŚLINNYCH

Pirofosforylaza UDP-glukozy jest enzymem niezbędnym do syntezy sacharozy w liściach [20, 73]. Enzym ten włączony jest także w proces degradacji sacharozy z przeniesieniem szkieletów węglowych do syntezy skrobi, w biosyntezę celulozy i kalozy oraz metabolizm cukrowców w bulwach ziemniaków przechowywanych w niskich temperaturach [15, 59, 63, 70]. Ostatnie doniesienia wskazują również na istotną rolę UGPazy podczas wytwarzania bielma i pyłku [32, 80]. Nie jest to typowo roślinny enzym, występuje on również u zwierząt, u których bierze udział w procesie glikolizy, gdzie zsyntetyzowana UDP-glukoza stanowi substrat podczas syntezy glikogenu [27, 29].

W największym stopniu UGPaza zaangażowana jest w procesie syntezy sacharozy w cytozolu komórek fotosyntetyzujących, gdzie katalizuje reakcję przemiany glukozo-1-fosforanu do UDP-glukozy, przy udziale energii pochodzącej z UTP (ryc. 2) [23, 43, 73]. Reszta glukozy z UDP-glukozy przenoszona jest na fruktozo-6-fosforan. W wyniku tego procesu przy udziale syntazy sacharozofosforanowej (SPS, EC 2.4.1.14) powstaje fosfosacharoza [5, 7, 29, 44]. Zsyntetyzowana sacharoza jest rozkładana z udziałem inwertazy do glukozy i fruktozy lub przez syntazę sacharozy, do UDP-glukozy i fruktozy [63, 73]. Wyprodukowana w liściach sacharoza jest w większości transportowana floemem do miejsc zużycia, np. korzeni, pędów kwiatowych. UGPaza współpracując z SPS w produkcji sacharozy w liściach pośrednio może uczestniczyć w załadunku floemu [5, 7, 29, 44, 61].

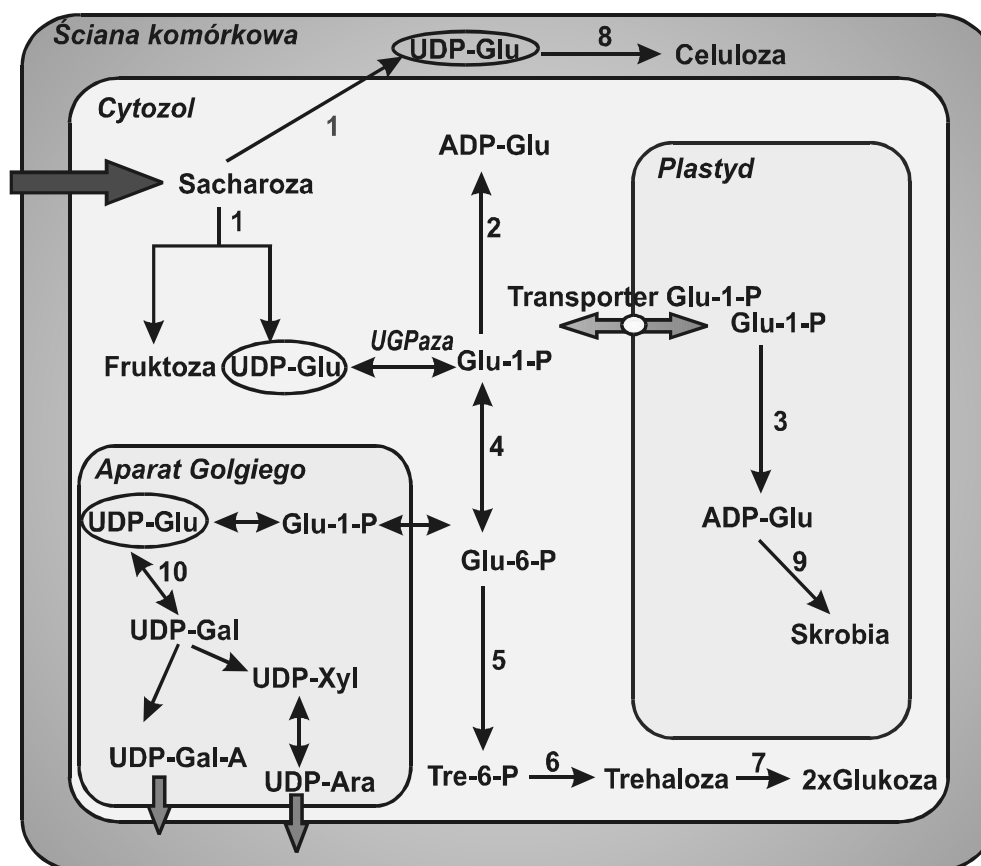
UDP-glukoza jest prekursorem skrobi w plastydach i chloroplastach (ryc. 2, 3), a jej synteza połączona jest z aktywnością cytozolowej pirofosforylasy ADP-glukozy (AGPazy, EC 2.7.7.27) [54, 69, 75]. Poziom podstawowego składnika pierwszego etapu syntezy skrobi – glukozo-1-fosforanu, reguluje UGPaza [20, 34, 80]. W kolejnej



RYCINA 2. Przemiany cukrów powstałych w komórce fotosyntetyzującej (wg [7, 12], zmodyfikowane): 1, 6 – aldolaza, 2, 7 – fruktozo-1,6-bisfosfataza, 3, 8 – izomeraza, 4, 9 – fosfoglukomutaza, 5 – pirofosforylaza ADP-glukozy, 10 – dehydrogenaza UDP-glukozy, 11 – dekarboksylaza UDP-glukuronianowa, 12 – epimeraza, 13 – syntaza sacharozy; Trioso-P – triozo-fosforany, Fru-1,6-BP – fruktozo-1,6-bisfosforan, Fru-6-P – fruktozo-6-fosforan, Glu-6-P – glukozo-6-fosforan, ADP-Glu – ADP-glukoza, UDP-Glu – UDP-glukoza, Glu-1-P – glukozo-1-fosforan, UDP-Gal – UDP-galaktoza, UDP-GluA – UDP-glukuronian, UDP-Xyl – UDP-ksyloza

FIGURE 2. Sugar transformation in source tissues (modified acc. to [7, 12]): 1, 6 – aldolase, 2, 7 – fructose-1,6-bisphosphatase, 3, 8 – isomerase, 4, 9 – phosphoglucomutase, 5 – ADP-glucose pyrophosphorylase, 10 – UDP-glucose pyrophosphorylase, 11 – UDP-glucose dehydrogenase, 12 – UDP-glucuronic decarboxylase, 13 – epimerase, 14 – sucrose synthase; Triose-P – triose phosphate, Fru-1,6-BP – fructose-1,6-bisphosphate, Fru-6-P – fructose-6-phosphate, Glu-6-P – glucose-6-phosphate, ADP-Glu – ADP-glucose, UDP-Glu – UDP-glucose, Glu-1-P – glucose-1-phosphate, UDP-Gal – UDP-galactose, UDP-GluA – UDP-glucuronic acid, UDP-Xyl – UDP-xylose

reakcji następuje konwersja UDP-glukozy do ADP-glukozy z udziałem AGPazy [21, 68, 69]. Następnie syntaza skrobi (SS, EC 2.4.1.21) katalizuje reakcję przekształcenia ADP-glukozy do skrobi, która zostaje zakumulowana w amyloplastach i chloroplastach [20, 54, 75]. Szacuje się, że w tkankach nefotosyntetyzujących około 70% sacharozy powstałej podczas fotosyntezy jest wykorzystana do biosyntezy skrobi w reakcji zależnej od PPI, katalizowanej przez AGPazę [16, 17].



RYCINA 3. Szlak degradacji sacharozy i przemiany powstałej UDP-glukozy w różnych procesach metabolicznych w komórce niefotosyntetyzującej (wg [41, 46], zmodyfikowany): 1 – syntaza sacharozy, 2 – pirofosforylaza ADP-glukozy (cytozolowa), 3 – pirofosforylaza ADP-glukozy (plastydowa), 4 – fosfoglukomutaza (cytozolowa), 5 – syntaza trehalozo-6-fosforanu, 6 – fosfataza trehalozo-6-fosforanu, 7 – trehalaza, 8 – syntaza celulozy, 9 – syntaza skrobiowa 10 – dehydrogenaza UDP-glukozy; UDP-Glu – UDP-glukoza, ADP-Glu – ADP-glukoza, Glu-1-P – glukoza-1-fosforan, Glu-6-P – glukoza-6-fosforan, Tre-6-P – trehalozo-6-fosforan, UDP-Gal – UDP-galaktoza, UDP-Gal-A – UDP-galakturnian, UDP-Xyl – UDP-ksyloza, UDP-Ara – UDP-arabinoza

FIGURE 3. Sucrose degradation in sink tissues (modified acc. to [41, 46]): 1 – sucrose synthase, 2 – cytosolic ADP-glucose pyrophosphorylase, 3 – plastid ADP-glucose pyrophosphorylase, 4 – fosfoglukomutase, 5 – trehalose-6-phosphate synthase, 6 – trehalose-6-phosphate phosphatase, 7 – trehalase, 8 – cellulose synthase, 9 – starch synthase, 10 – UDP-glucose dehydrogenase, 11 – UDP-glucose pyrophosphorylase; UDP-Glu – UDP-glucose, ADP-Glu – ADP-glucose, Glu-1-P – glucose-1-phosphate, Glu-6-P – glucose-6-phosphate, Tre-6-P – trehalose-6-phosphate, UDP-Gal – UDP-galactose, UDP-Gal-A – UDP-galacturonic acid, UDP-Xyl – UDP-xylose, UDP-Ara – UDP-arabinose

W cytozolu komórek niefotosyntetyzujących sacharoza jest wykorzystywana w procesie oddychania, do syntezy polisacharydów strukturalnych i materiałów zapasowych (ryc. 3) [19, 30, 73, 74]. W tkankach, takich jak: korzenie, bulwy czy kwiaty, pirofosforylaza UDP-glukozy włączona jest w degradację sacharozy [35, 46]. W procesie tym UDP-glukoza powstaje z rozkładu skrobi w reakcji katalizowanej przez

syntazę sacharozy (SuSy, EC 2.4.1.13) [7, 11, 18, 35, 37]. SuSy hydrolizuje sacharozę do fruktozy i UDP-glukozy, która może być dalej przekształcona przez UGPazę do glukozo-1-fosforanu wykorzystywanego np. do syntezy celulozy, kalozy lub w reakcji glikolizy (ryc. 3) [7, 17, 37].

Syntaza sacharozy związana z plazmolemą odpowiada za dostarczanie UDP-glukozy do kompleksu enzymatycznego syntazy celulozowej podczas produkcji celulozy i innych polisacharydów ścian komórkowych (ryc. 2, 3) [15, 30, 36]. Badania na topoli wskazują, że aktywność enzymatyczna pirofosforylasy UDP-glukozy wzrasta podczas formowania ściany komórkowej, co sugeruje, że enzym ten jest niezbędny podczas syntezy celulozy i współpracuje z kompleksem syntazy celulozy [14, 26]. Celuloza i kaloza są produkowane z UDP-glukozy bezpośrednio w plazmolemie, podczas gdy inne sacharydy strukturalne, np. hemiceluloza, pektyny, ksyloza, galaktoza, są syntetyzowane w strukturach Golgiego i później transportowane na zewnątrz plazmolemy przez transport pęcherzykowy [4, 35, 36, 41, 59].

UGPaza odgrywa kluczową rolę podczas rozwoju bielma nasion oraz pyłku u ryżu [4, 28, 32, 80]. UDP-glukoza, będąca produktem katalizowanej przez UGPazę reakcji, jest ważnym metabolitem biorącym udział w syntezie polisacharydów budujących ścianę komórkową oraz syntezie skrobi bielma i pyłku, a mutacja genu kodującego UGPazę powoduje niemal całkowity zanik pyłku oraz kredowatość bielma nasion [4, 28, 80].

Ostatnie doniesienia wskazują również na udział chloroplastowej UGPazy w biosyntezie sulfolipidów budujących błony tylakoidów [56]. UGPaza katalizuje pierwszy etap syntezy z wytworzeniem UDP-glukozy, która następnie przez syntazę UDP-SQ (SQD1, EC 3.16.1.1) i syntazę sulfolipidową (SQD2, EC 2.4.1.-) przekształcana jest do sulfolipidu SQDG [56].

Alternatywna droga syntezy UDP-glukozy odbywa się przy udziale pirofosforylasy UDP-cukrowej (EC 2.7.7.64). Wykazuje ona szeroką specyficzność substratową do monosacharydów 1-fosforanowych [22, 39, 40]. Enzym ten katalizuje odwracalne reakcje, w których powstaje odpowiednio oprócz UDP-glukozy także UDP-galaktoza, kwas UDP-glukuronowy, UDP-ksyloza i UDP-arabinoza, wykorzystywane podczas syntezy glikolipidów, glikoprotein i elementów ściany komórkowej [22, 39, 40].

Czynniki stresowe wpływające na rośliny powodują często zwiększenie ekspresji genów UGPazy (tab. 1), stężenia białka enzymatycznego i jego aktywności. To z kolei powoduje zwiększenie syntezy sacharozy i nagromadzenie cukrów w komórkach [2, 8, 10, 12, 42, 51, 52, 79]. Nadmiar cukrów odgrywa rolę w mechanizmach obronnych roślin przed niekorzystnymi warunkami środowiska, ponieważ stanowią one swoisty magazyn węgla, pełnią rolę osmoregulatorów i krioprotektantów oraz cząstek sygnałowych [5, 6, 7, 61]. Nagromadzenie cukrów może prowadzić również do ochrony aparatu fotosyntetycznego, ponieważ wpływają one na zmniejszenie aktywności fotosyntetycznej i zwiększenie intensywności oddychania. Wzrost stężenia sacharozy lub glukozy powoduje zahamowanie ekspresji niektórych genów kodujących białka uczestniczące w fotosyntezie [6, 9, 61].

W bulwach ziemniaków, przechowywanych w temperaturze 8°C, UGPaza bierze udział w procesie polegającym na gromadzeniu się cukrów redukujących powodujących

słodkawy smak ziemniaków, stąd angielska nazwa dla tego procesu „cold sweetening” lub „cold-induced-sweetening” [35, 55, 70, 71]. UGPaza katalizuje pierwszy etap reakcji prowadzącej bezpośrednio do syntezy heksoz (glukozy i fruktozy) z udziałem donorów glukozyłowych, UDP-glukozy. Następnie, przy udziale SPS, UDP-glukoza jest przekształcana do sacharozy. Taka akumulacja cukrów nie jest korzystna w przetwórstwie spożywczym, ponieważ powoduje słodkawy smak ziemniaków. Ponadto podczas smażenia frytek zachodzi reakcja pomiędzy grupami aldehydowymi nagromadzonych cukrów redukujących i grupami aminowymi aminokwasów (tzw. reakcja Maillarda), która powoduje nadmierne ciemnienie frytek [55, 70, 71].

Drugim produktem reakcji katalizowanej przez UGPazę jest PPI, którego głównym zadaniem jest dostarczanie energii potrzebnej m.in. do degradacji sacharozy [17, 43]. PPI bierze udział w reakcjach fosforylacji przy udziale pomp protonowych zależnych od pirofosforanu, degradacji sacharozy przez SuSy, UGPazę i fruktokinazę oraz włączeniu w glikolizę fruktozo-6-fosforanu (PFP) [43, 72]. PPI może być dodatkowym źródłem wolnego Pi, jak też uczestniczyć w reakcjach metabolicznych zamiast ATP, którego poziom obniża się w warunkach stresowych, np. podczas deficytu fosforu [7]. Rozszczepienie PPI do nieorganicznego fosforanu (Pi) zachodzi na terenie komórki, a reakcję tę katalizuje nieorganiczna pirofosfataza (PPaza, EC 3.6.1.1) [64]. Powstały w tej reakcji Pi jest następnie usuwany przez PPazę do cytozolu przez specjalne przenośniki Pi lub bezpośrednio przez przenośniki bez udziału enzymu [43, 64].

## PODSUMOWANIE

Pirofosforylaza UDP-glukozy jest ściśle związana z metabolizmem węglowodanów w komórkach roślinnych, odpowiedzią roślin na endogenne i egzogenne czynniki stresowe oraz morfogenezą roślin. Pirofosforylaza UDP-glukozy podlega wielostronnej regulacji na poziomie transkrypcji oraz zmian potranslacyjnych, co pozwala na precyzyjną regulację aktywności enzymatycznej w warunkach zmieniających się czynników zewnętrznych i wewnętrznych oddziałujących na komórki roślinne. UDP-glukoza powstała podczas reakcji katalizowanej przez omawiany enzym stanowi główną, zaktywowaną formę cukru, stanowiącą substrat wielu reakcji w komórce, zwłaszcza podczas szlaku biosyntezy/rozkładu sacharozy odgrywającego istotną rolę w metabolizmie roślin. PPI jako drugi produkt reakcji katalizowanej przez UGPazę wykorzystywany jest do przemian metabolicznych dostarczając Pi.

## LITERATURA

- [1] ABE T, NIIYAMA H, SASAHARA T. Cloning of cDNA for UDP-glucose pyrophosphorylase and the expression of mRNA in rice endosperm. *Theor Appl Genet* 2002; **105**: 216–221.
- [2] CARPENTIER SC, WITTERS E, LAUKENS K, VAN ONCKELEN H, SWENNEN R, PANIS B. Banana (*Musa* spp.) as a model to study the meristem proteome: acclimation to osmotic stress. *Proteomics* 2006; **7**: 92–105.
- [3] CHEN R, ZHAO X, SHAO Z, LILI ZHU L, HE G. Multiple isoforms of UDP-glucose pyrophosphorylase in rice. *Physiol Plant* 2007; **129**: 725–736.

- [4] CHEN R, ZHAO X, SHAO Z, WEI Z, WANG Y, ZHU L, ZHAO J, SUN M, HE R, HE G. Rice UDP-glucose pyrophosphorylase 1 is essential for pollen callose deposition and its cosuppression results in a new type of thermosensitive male sterility. *Plant Cell* 2007; **19**: 847–861.
- [5] CIERESZKO I. Sucrose metabolism in plant tissues under stress conditions: key enzymes, localization and function. W: Compartmentation of responses to stresses in higher plants, true or false. Maksymiec W. (red.) Transworld Research Network, Kerala, India 2009: 193–218.
- [6] CIERESZKO I. Odbiór i przekazywanie sygnału wywołanego zmianami poziomu cukrów w komórkach roślinnych. *Post Biol Kom* 2007; **34**: 693–711.
- [7] CIERESZKO I. Kontrola metabolizmu sacharozy u roślin w odpowiedzi na zmienne warunki środowiska. *Kosmos* 2006; **55**: 229–241.
- [8] CIERESZKO I, JOHANSSON H, HURRY V, KLECZKOWSKI LA. Phosphate status affects the gene expression, protein content and enzymatic activity of UDP-glucose pyrophosphorylase in wild-type and pho mutants of *Arabidopsis*. *Planta* 2001; **212**: 598–605.
- [9] CIERESZKO I, JOHANSSON H, KLECZKOWSKI LA. Interactive effects of phosphate deficiency, sucrose and light/dark conditions on gene expression of UDP-glucose pyrophosphorylase in *Arabidopsis*. *J Plant Physiol* 2005; **162**: 343–353.
- [10] CIERESZKO I, JOHANSSON H, KLECZKOWSKI LA. Sucrose and light regulation of a cold-inducible UDP-glucose pyrophosphorylase gene via a hexokinase-independent and abscisic acid – insensitive pathway in *Arabidopsis*. *Biochem J* 2001; **354**: 67–72.
- [11] CIERESZKO I, KLECZKOWSKI LA. Phosphate deficiency-dependent upregulation of UDP-glucose pyrophosphorylase genes is insensitive to ABA and ethylene status in *Arabidopsis* leaves. *Acta Physiol Plant* 2006; **26**: 387–393.
- [12] CIERESZKO I, KLECZKOWSKI LA. Expression of several genes involved in sucrose/starch metabolism as affect by different strategies to induce phosphate deficiency in *Arabidopsis*. *Acta Physiol Plant* 2005; **27**: 147–155.
- [13] COLEMAN HD, CANAM T, KANG KY, ELLIS DD, MANSFIELD SD. Over-expression of UDP-glucose pyrophosphorylase in hybrid poplar affects carbon allocation. *J Exp Bot* 2007; **58**: 4257–4268.
- [14] COLEMAN HD, ELLIS DD, GILBERT M, MANSFIELD SD. Up-regulation of sucrose synthase and UDP-glucose pyrophosphorylase impacts plant growth and metabolism. *Plant Biotechnol J* 2006; **4**: 87–101.
- [15] DELMER DP, HAIGLER CH. The regulation of metabolic flux to cellulose, a major sink for carbon in plants. *Metab Eng* 2002; **4**: 22–28.
- [16] FARRÉ EM, GEIGENBERGER P, WILLMITZER L, TRETHERWEY RN. A possible role for pyrophosphate in the coordination of cytosolic and plastidial carbon metabolism within the potato tuber. *Plant Physiol* 2000; **123**: 681–688.
- [17] FARRÉ EM, TECH S, TRETHERWEY RN, FERNIE AR, WILLMITZER L. Subcellular pyrophosphate metabolism in developing tubers of potato (*Solanum tuberosum*). *Plant Mol Biol* 2006; **62**: 165–179.
- [18] FERNIE AR, WILLMITZER L, TRETHERWEY RN. Sucrose to starch: a transition in molecular plant physiology. *Trends Plant Sci* 2002; **7**: 35–41.
- [19] FINAEV D. Some aspects of cellulose biosynthesis. *Biol Plant* 2007; **51**: 407–413.
- [20] GEIGENBERGER P, STITT M, FERNIE AR. Metabolic control analysis and regulation of the conversion of sucrose to starch in growing potato tubers. *Plant Cell Environ* 2004; **27**: 655–673.
- [21] GEISLER M, WILCZYŃSKA M, KARPINSKI S, KLECZKOWSKI LA. Toward a blueprint for UDP-glucose pyrophosphorylase 2 structure/function properties: homology-modeling analyses. *Plant Mol Biol* 2004; **56**: 783–794.
- [22] GRONWALD JW, MILLER SS, VANCE CP. *Arabidopsis* UDP-sugar pyrophosphorylase: evidence for two isoforms. *Plant Physiol Biochem* 2008; **46**: 1101–1105.
- [23] GUPTA SK, SOWOKINOS JR. Physicochemical and kinetic properties of unique isozymes of UDP-Glc pyrophosphorylase that are associated with resistance to sweetening in cold-stored potato tubers. *J Plant Physiol* 2003; **160**: 589–600.
- [24] GUPTA SK, SOWOKINOS JR, HAHN IS. Regulation of UDP-glucose pyrophosphorylase isozyme UGP5 associated with cold-sweetening resistance in potatoes. *J Plant Physiol* 2008; **165**: 679–690.
- [25] HERNANDEZ G, RAMIREZ M, VALDES-LOPEZ O, TESFAYE M, GRAHAM MA, CZECHOWSKI T, SCHLERETH A, WANDREY M, ERBAN A, CHEUNG F, WU HC, LARA M, TOWN CD, KOPKA J, UDVARDI MK, VANCE CP. Phosphorus stress in common bean: root transcript and metabolic responses. *Plant Physiol* 2007; **144**: 752–767.

- [26] HERTZBERG M, ASPEBORG H, SCHRADER J, ANDERSSON A, ERLANDSSON R, BLOMQUIST K, BHALERAO R, UHLEN M, TEERI TT, LUNDEBERG J, SUNDBERG B, NILSSON P, SANDBERG G. A transcriptional roadmap to wood formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 14732–14737.
- [27] HIGUITA JC, ALAPE-GIRP A, THELESTAM M, KATZ A. A point mutation in the UDP glucose pyrophosphorylase gene results in decreases of UDP-glucose and inactivation of glycogen synthase. *Biochem J* 2003; **370**: 995–1001.
- [28] HONG M, JIANHAO K, WEI L, CHUXIONG Z, WINGKIN Y. UDP-glucose pyrophosphorylase2 (*OsUgp2*), a pollen-preferential gene in rice, plays a critical role in starch accumulation during pollen maturation. *Chin Sci Bull* 2009; **54**: 234–243.
- [29] JOHANSSON H. Gene regulation of UDP-glucose synthesis and metabolism in plants. PhD thesis 2003 Umeå University, Umeå, Sweden
- [30] JOSHI CP, MANSFIELD SD. The cellulose paradox – simple molecule, complex biosynthesis. *Curr Opin Plant Biol* 2007; **10**: 220–226.
- [31] KEURENTJES JJB, SULPICE R, GIBON Y, STEINHAUSER M, FU J, KOORNNEEF M, STITT M, VREUGDENHIL D. Integrative analyses of genetic variation in enzyme activities of primary carbohydrate metabolism reveal distinct modes of regulation in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Biol* 2008; **9**: 129.1–129.20
- [32] KIYOZUMI D, ISHIMIZU T, NAKANISHI T, NORIOKA S. Pollen UDP-glucose pyrophosphorylase showing polymorphism well-correlated to the S genotype of *Pyrus pyrifolia*. *Sex Plant Reprod* 2002; **14**: 315–323.
- [33] KLECZKOWSKI LA, MARTZ F, WILCZYNSKA M. Factors affecting oligomerization status of UDP-glucose pyrophosphorylase. *Phytochemistry* 2005; **66**: 2815–2821.
- [34] KLECZKOWSKI LA. Glucose activation and metabolism through UDP-glucose pyrophosphorylase in plants. *Phytochem* 1994; **37**: 1507–1515.
- [35] KLECZKOWSKI LA, GEISLER M, CIERESZKO I, JOHANSSON H. UDP-glucose pyrophosphorylase. An old protein with new tricks. *Plant Physiol* 2004; **134**: 912–918.
- [36] KLINGHAMMER M, TENHAKEN R. Genome-wide analysis of the UDP-glucose dehydrogenase gene family in *Arabidopsis*, a key enzyme for matrix polysaccharides in cell walls. *J Exp Bot* 2007; **58**: 3609–3621.
- [37] KOCH K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Curr Opin Plant Biol* 2004; **7**: 235–246
- [38] KOMATSU S, YAMADA E, FURUKAWA K. Cold stress changes the concanavalin A-positive glycosylation pattern of proteins expressed in the basal parts of rice leaf sheaths. *Amino Acids* 2009; **36**: 115–123.
- [39] KOTAKE T, HOJO S, YAMAGUCHI D, AOYAMA T, KONISHI T, TSUMURAYA Y. Properties and physiological functions of UDP-sugar pyrophosphorylase in *Arabidopsis*. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007; **71**: 761–771.
- [40] KOTAKE T, YAMAGUCHI D, OHZONO H, HOJO S, KANEKO S, ISHIDA H, TSUMURAYA Y. UDP-sugar pyrophosphorylase with broad substrate specificity toward various monosaccharide 1-phosphates from pea sprouts. *J Biol Chem* 2004; **279**: 45728–45736.
- [41] LITTERER LA, PLAISANCE KL, SCHNUM JA, STOREY KK, JUNG HJG, GRONWALD JW, SOMERS DA. Biosynthesis of UDP-glucuronic acid in developing soybean embryos: possible role of UDP-sugar pyrophosphorylase. *Physiol Plant* 2006; **128**: 200–211.
- [42] LLOYD JC, ZAKHLENIUK OV. Responses of primary and secondary metabolism to sugar accumulation revealed by microarray expression analysis of the *Arabidopsis* mutant, *pho3*. *J Exp Bot* 2004; **55**: 1221–1230.
- [43] LUNN JE. Compartmentation in plant metabolism. *J Exp Bot* 2007; **58**: 35–47.
- [44] LUNN JE, MACRAE E. New complexities in the synthesis of sucrose. *Curr Opin Plant Biol* 2003; **6**: 208–214.
- [45] LYNCH JP, HO MD. Rhizoeconomics: carbon costs of phosphorus acquisition. *Plant and Soil* 2005; **269**: 45–56.
- [46] LYTOVCHENKO A, SONNEWALD U, FERNIE AR. The complex network of non-cellulosic carbohydrate metabolism. *Curr Opin Plant Biol* 2007; **10**: 227–235.
- [47] MARTZ F, WILCZYNSKA M, KLECZKOWSKI LA. Oligomerization status, with the monomer as active species, defines catalytic efficiency of UDP-glucose pyrophosphorylase. *Biochem J* 2002; **367**: 295–300.

- [48] MATSUURA-ENDO C, KOBAYASHI A, NODA T, TAKIGAWA S, YAMAUCHI H, MORI M. Changes in sugar content and activity of vacuolar acid invertase during low-temperature storage of potato tubers from six Japanese cultivars. *J Plant Res* 2004; **117**: 131–137.
- [49] MCCOY JG, BITTO E, BINGMAN CA, WESENBERG GE, BANNEN NRM, KONDRASHOV DA, PHILIPS JR GN. Structure and dynamics of UDP-glucose pyrophosphorylase from *Arabidopsis thaliana* with bound UDP-glucose and UTP. *J Mol Biol* 2007; **366**: 830–841.
- [50] MENG M. Plant UDP-glucose pyrophosphorylase: function and regulation. PhD thesis 2008 Umeå University, Umeå, Sweden
- [51] MENG M, GEISLER M, JOHANSSON H, HARHOLT J, SCHELLER HV, MELLEROWICZ EJ, KLECZKOWSKI LA. UDP-glucose pyrophosphorylase is not rate limiting, but is essential in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* 2009; **50**: 998–1011.
- [52] MENG M, GEISLER M, JOHANSSON H, MELLEROWICZ EJ, KARPINSKI S, KLECZKOWSKI LA. Differential tissue/organ-dependent expression of two sucrose- and cold-responsive genes for UDP-glucose pyrophosphorylase in *Populus*. *Gene* 2007; **389**: 186–195.
- [53] MENG M, WILCZYNSKA M, KLECZKOWSKI LA. Molecular and kinetic characterization of two UDP-glucose pyrophosphorylases, products of distinct genes, from *Arabidopsis*. *BBA – Proteins & Proteomics* 2008; **1784**: 967–972.
- [54] MUNOZ FJ, ZORZANO MTM, ALONSO-CASAJUS N, BAROJA-FERNANDEZ E, ETXEBERRIA E, POZUETA - ROMERO J. New enzymes, new pathways and an alternative view on starch biosynthesis in both photosynthetic and heterotrophic tissues of plants. *Biocat and Biotransform* 2006; **24**: 63–76.
- [55] NAVRÁTIL O, FISCHER L, ČMEJLOVÁ J, LINHART M, VACEK J. Decreased amount of reducing sugars in transgenic potato tubers and its influence on yield characteristics. *Biol Plant* 2007; **51**: 56–60.
- [56] OKAZAKI Y, SHIMOJIMA M, SAWADA Y, TOYOOKA K, NARISAWA T, MOCHIDA K, TANAKA H, MATSUDA F, HIRAI A, HIRAI MY, OHTA H, SAITO K. A chloroplastic UDP-glucose pyrophosphorylase from *Arabidopsis* is the committed enzyme for the first step of sulfolipid biosynthesis. *Plant Cell* 2009; **21**: 892–909.
- [57] PINA A, ERREA P. Influence of graft incompatibility on gene expression and enzymatic activity of UDP-glucose pyrophosphorylase. *Plant Sci* 2008; **174**: 502–509.
- [58] POLIT JT, CIERESZKO I. *In situ* activities of hexokinase and fructokinase in relation to phosphorylation status of root meristem cells of *Vicia faba* during reactivation from sugar starvation. *Physiol Plant* 2009; **135**: 342–350.
- [59] REITER WD. Biochemical genetics of nucleotide sugar interconversion reactions. *Curr Opin Plant Biol* 2008; **11**: 236–243.
- [60] ROEBEN A, PLITZKO JM, KÖRNER R, BÖTTCHER UMK, SIEGERS K, HAYER-HARTL M, BRACHER A. Structural basis for subunit assembly in UDP-glucose pyrophosphorylase from *Saccharomyces cerevisiae*. *J Mol Biol* 2006; **364**: 551–560.
- [61] ROLLAND F, BAENA-GONZALEZ E, SHEEN J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annu Rev Plant Biol* 2006; **57**: 675–709.
- [62] RUTTER J, PROBST BL, MCKNIGHT SL. Coordinate regulation of sugar flux and translation by PAS kinase. *Cell* 2002; **111**: 17–28.
- [63] SALERNO GL, CURATTI L. Origin of sucrose metabolism in higher plants: when, how and why? *Trends Plant Sci* 2003; **8**: 63–69.
- [64] SCHULZE S, MANTA, KOSSMANN J, LLOYD JR. Identification of an *Arabidopsis* inorganic pyrophosphatase capable of being imported into chloroplasts. *FEBS Letters* 2004; **565**: 101–105.
- [65] SERGEEVA LJ, VREUGDENHIL D. *In situ* staining of activities of enzymes involved in carbohydrate metabolism in plant tissues. *J Exp Bot* 2002; **53**: 361–370.
- [66] SHUNPING Y, ZHANGCHENG T, WEIAI S, WEINING S. Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in rice root. *Proteomics* 2005; **5**: 235–244.
- [67] SIEDLECKA A, CIERESZKO I, MELLEROWICZ E, MARTZ F, CHEN J, KLECZKOWSKI LA. The small subunit ADP-glucose pyrophosphorylase (ApS) promoter mediates okadaic acid-sensitive *uidA* expression in starch-synthesizing tissues and cells in *Arabidopsis*. *Planta* 2003; **217**: 184–192.
- [68] SMIDANSKY ED, MARTIN JM, HANNAH LC, FISCHER AM, GIROUX MJ. Seed yield and plant biomass increases in rice are conferred by deregulation of endosperm ADP-glucose pyrophosphorylase. *Planta* 2003; **216**: 656–664.
- [69] SMIDANSKY ED, CLANCY M, MEYER FD, LANNING SP, BLAKE NK, TALBERT LE, GIROUX MJ. Enhanced ADP-glucose pyrophosphorylase activity in wheat endosperm increases seed yield. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 1724–1729.



- [70] SOWOKINOS JR. Allele and isozyme patterns of UDP-glucose pyrophosphorylase as a marker for cold-sweetening resistance in potatoes. *Am J Potato Res* 2001; **78**: 57–64.
- [71] SOWOKINOS JR, VIGDOROVICH V, ABRAHAMSEN M. Molecular cloning and sequence variation of UDP-glucose pyrophosphorylase cDNAs from potatoes sensitive and resistant to cold sweetening. *J Plant Phys* 2004; **161**: 947–955.
- [72] STITT M. Pyrophosphate as an energy donor In the cytosol of plant cells: an enigmatic alternative to ATP. *Bot Acta* 1998; **111**: 167–175.
- [73] STRZAŁKA K. Procesy anaboliczne. W: Fizjologia roślin. Kopcewicz J., Lewak S. (red.) Wydawnictwo Naukowe PWN; Warszawa 2007: 330–386.
- [74] SZADEL A, LORENC-PLUCIŃSKA G. Metabolizm sacharozy u roślin oraz jego regulacja w warunkach stresów środowiskowych. *Post Biol Kom* 2002; **29**: 47–59.
- [75] TETLOW IJ, MORELL MK, EMES MJ. Recent developments in understanding the regulation of starch metabolism in higher plants. *J Exp Bot* 2004; **55**: 2131–2145.
- [76] THIMM O, ESSIGMANN B, KLOSKA S, ALTMANN T, BUCKHOUT TJ. Response of *Arabidopsis* to iron deficiency stress as revealed by microarray analysis. *Plant Phys* 2001; **127**: 1030–1043.
- [77] THODEN JB, HOLDEN HM. The molecular architecture of glucose-1-phosphate uridylyltransferase. *Protein Sci* 2007; **16**: 432–440.
- [78] THODEN JB, HOLDEN HM. Active site geometry of glucose-1-phosphate uridylyltransferase. *Protein Sci* 2007; **16**: 1379–1388.
- [79] WASAKI J, YONETANI R, KURODA S, SPINANO T, YAZUKI J, FUJI F, SHIMBO K, YAMAMOTO K, SAKATA K, SASAKI T, KISHIMOTO N, KIKUCHI S, YAMAGISHI M, OSAKI M. Transcriptomic analysis of metabolic changes by phosphorus stress in rice plant roots. *Plant Cell Environ* 2003; **26**: 1515–1523.
- [80] WOO M, HAM T, JI H, CHOI M, JIANG W, CHU S, PIAO R, CHIN J, KIM J, PARK BS, SEO HS, JWA N, MCCOUCH S, KOH H. Inactivation of the UGPase1 gene causes genic male sterility and endosperm chalkiness in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant J* 2008; **54**: 190–204.

*Redaktor prowadzący – Maria Olszewska*

*Otrzymano: 16.07. 2009 r.*

*Przyjęto: 26.10. 2009 r.*

*E. Łukaszuk*

*Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku,*

*Świerkowa 20B, 15-950 Białystok*

*e-mail: edytaluk@uwb.edu.pl*