

ROŚLINNE IMMUNOFILINY STRUKTURA I FUNKCJE*

PLANT IMMUNOPHILINS – STRUCTURE AND FUNCTIONS

Agnieszka KIEŁBOWICZ-MATUK

Pracownia Genomiki Funkcjonalnej, Instytut Genetyki Roślin
Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Streszczenie: Pierwotnie zdefiniowane jako komórkowe receptory dla związków immunosupresyjnych, immunofiliny obejmują dwie rodziny unikatowych białek. Należą do nich białka wiążące FK506 określane terminem FKBP oraz białka wiążące cyklosporynę określane jako cyklofiliny. Występują one powszechnie w świecie organizmów żywych. Obecnie wiadomo, że genom *A. thaliana* zawiera 52 geny dla immunofilin, z tego 23 kodują białka FKBP, a 29 – cyklofiliny. Pomimo różnej budowy wszystkie immunofiliny mają aktywność enzymatyczną peptydylo-prolyl *cis-trans* izomerazy (PPIazy). Podczas gdy rolę FKBP i cyklofilin w procesie dojrzewania białek dobrze poznano, aktualny stan wiedzy na temat innych funkcji tych białek w komórce roślinnej jest ubogi. Sugeruje się, że jako znaczący składnik proteomu chloroplastów, immunofiliny mogą odgrywać istotną rolę w wielu procesach tam zachodzących. Ponadto analiza mutantów charakteryzujących się licznymi defektami rozwojowym dostarczyła dowodów na udział wielodomenowych immunofilin we wzroście i rozwoju roślin.

Słowa kluczowe: immunofiliny, cyklofiliny, białka FKBP, fałdowanie białek, peptydylo-prolyl *cis/trans* izomeraza.

Summary: Primary defined as the cellular receptors for immunosuppressive drugs, the immunophilins encompass two ubiquitous protein families. They consist of the FK506 binding proteins termed as FKBP and cyclosporin binding proteins referred to as cyclophilins. They have been found in all organisms. The 52 genes encode immunophilins have been identified in *A. thaliana* genome, among which 23 encode putative FKBP and 29 putative cyclophilins. Despite the various structure both families have peptidyl-prolyl *cis/trans* isomerase (PPIase) activity. Whilst the role of FKBP and cyclophilin in proteins maturation is well understanding, the current stage of knowledge of different functions of this ubiquitous protein family in plant cell is poor. As a significant component of the chloroplast proteome, immunophilins may play important roles in processes which take place in this subcellular compartment. Moreover, evidence for the role of multidomain immunophilins in plant growth and development comes from characterization of mutants showing very marked developmental abnormalities.

Key words: immunophilin, cyclophilin, FKBP proteins, protein folding, peptidyl-prolyl *cis/trans* isomerase.

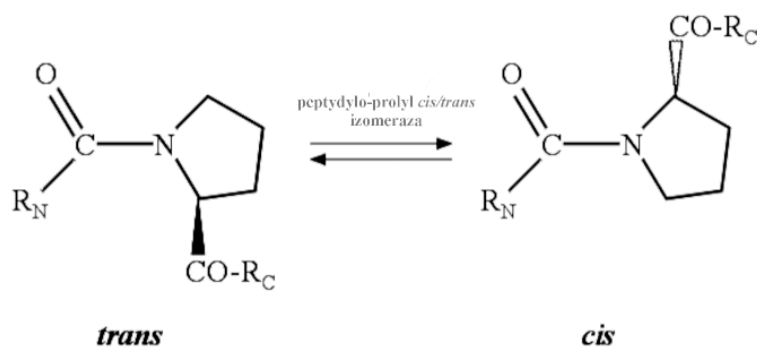
*Praca dofinansowana przez Instytut Genetyki Roślin PAN.

WSTĘP

Terminem immunofiliny określa się rodzinę białek o zachowawczej strukturze wiążących związki immunosupresyjne, takie jak: cyklosporyna A (CsA), FK-506 i rapamycyna. Należą do nich cyklofiliny (CYP) oraz białka FKBP (ang. **FK506 Binding Protein**), [40]. Występują one powszechnie w komórkach zwierząt, roślin wyższych, grzybów, pierwotniaków oraz u niektórych eubakterii [16]. Wszystkie immunofiliny pomimo różnej budowy mają aktywność izomerazy peptydyloprolylowej (PPIazy), która jest blokowana przez oddziaływanie ze specyficznymi immunosupresorami [8, 11, 30, 62, 77].

1. AKTYWNOŚĆ IZOMERAZOWA A FAŁDOWANIE BIAŁEK

Zanim nowo zsyntetyzowane łańcuchy białkowe będą zdolne poprawnie spełniać w komórce swoje funkcje, muszą zostać szybko i efektywnie przekształcone z ich pierwszorzędowej struktury liniowej do dobrze zdefiniowanej, funkcjonalnie kompetentnej struktury trzeciorzędowej. Podczas gdy fałdowanie globularnych polipeptydów o mniej złożonej strukturze następuje w czasie kilku sekund/milisekund, izomeryzacja wiązania imidowego Xaa-Pro (Xaa oznacza dowolny aminokwas), określanego także jako wiązanie peptydyloprolylowe, stanowi jeden z najwolniejszych etapów w procesie fałdowania białek. Obecnie wiadomo, że wiązanie prolylowe może występować w konformacji zarówno *cis*, jak i *trans* [39]. Prawdopodobnie, podczas translacji mRNA powstają wyłącznie wiązania *trans*, które w zależności od potrzeb zmieniane są na *cis*. Z termodynamicznego punktu widzenia przyjęcie przez białko danej konfiguracji w określonym miejscu łańcucha polipeptydowego musi być energetycznie najkorzystniejsze. Dlatego też wiązania *cis*-prolylowe są bardzo rzadkie (około 6% izomerów), podczas gdy *trans* izomery zwykle dominują [72]. Ponieważ etap izomeryzacji *cis/trans* jest jednym z najwolniej przebiegających w procesie fałdowania białek *in vitro*, może on determinować tempo osiągnięcia przez białko konformacji natywnej. Rolę enzymatycznych kataliza-

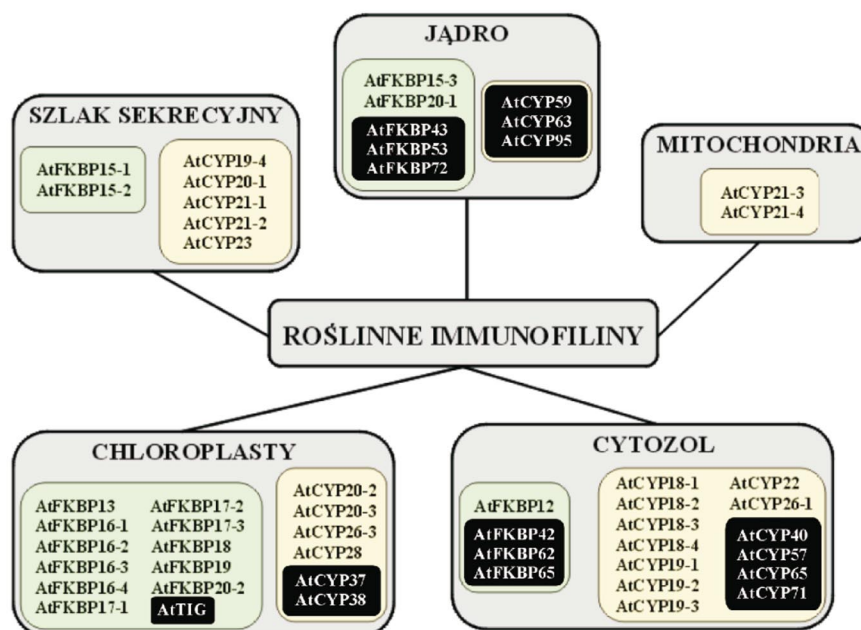


RYCINA 1. Mechanizm izomeryzacji wiązania peptydyloprolylowego *cis/trans* w obecności peptydyloprolyl *cis/trans* izomeraza (PPIaz)

torów, które biorą udział w przyspieszeniu tego procesu (ponad 300 razy) pełnią peptydylo-prolyl *cis/trans* izomerazy/rotamazy (PPIazy EC 5.1.2.8) (ryc. 1) [13, 14, 31, 80].

2. KLASYFIKACJA ROŚLINNYCH IMMUNOFILIN

Roślinne immunofiliny pierwotnie zostały wyizolowane w 1990 roku z pomidora (*Lycopersicon esculentum*), kukurydzy (*Zea mays*) i rzepaku (*Brassica napus*) [18]. Ukończenie programu sekwencjonowania modelowego genomu *A. thaliana* stało się bogatym źródłem wiedzy o strukturze genomów roślinnych oraz pozwoliło zidentyfikować potencjalne geny należące do rodziny immunofilin. Aktualne dane dowodzą, że u *Arabidopsis* występują 52 geny dla immunofilin, z tego 23 kodują białka FKBP, a 29 – cyklofiliny (ryc. 2) [75, 76]. Warto zaznaczyć, że liczba genów dla immunofilin u innych organizmów, których genom został w pełni zsekwencjonowany jest znacznie niższa. Na przykład w genomie u *Saccharomyces cerevisiae* stwierdzono obecność 4 genów dla FKBP i 8 dla cyklofilin, a u *Caenorhabditis elegans* – 8 genów dla białek FKBP i 16 dla CYP [17, 34]. Natomiast w genomie człowieka liczba genów wynosi 18 i 24,



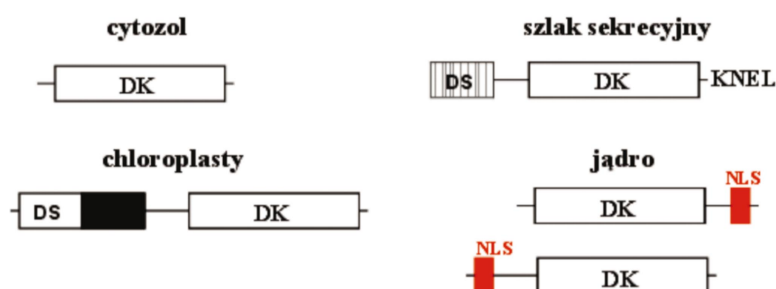
RYCINA 2. Lista 53 izoform roślinnych immunofilin z *A. thaliana* oraz ich subkomórkowa lokalizacja. Kolorem czarnym wpisano nazwy białek klasy jednodomenowej (SD), a kolorem białym należących do klasy wielodomenowej (MD) ([34, 75] zmienione)

odpowiednio dla białek FKBP i CYP. Badania wykazały, że u *Arabidopsis* geny dla immunofilin są rozmieszczone na wszystkich chromosomach, przy czym najwyższa liczba (17) występuje na chromosomie III. Tymczasem na chromosomach I, II, IV i V zlokalizowano odpowiednio 7, 8, 9 i 11 genów [34].

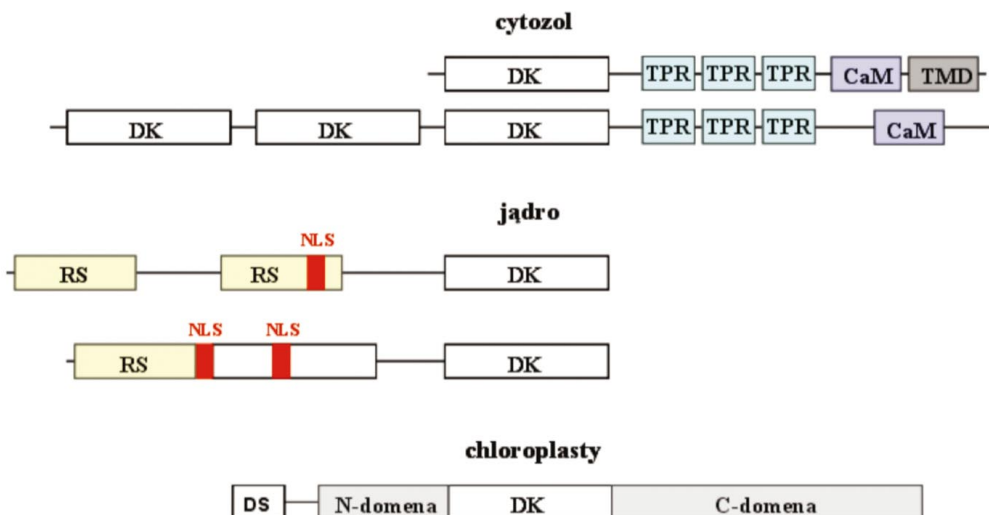
Aktualna klasyfikacja immunofilin roślinnych u *A. thaliana* została zaproponowana w 2004. Biorąc pod uwagę występowanie w cząsteczce białka różnych domen oraz

a

FKBP JEDNODOMENOWE

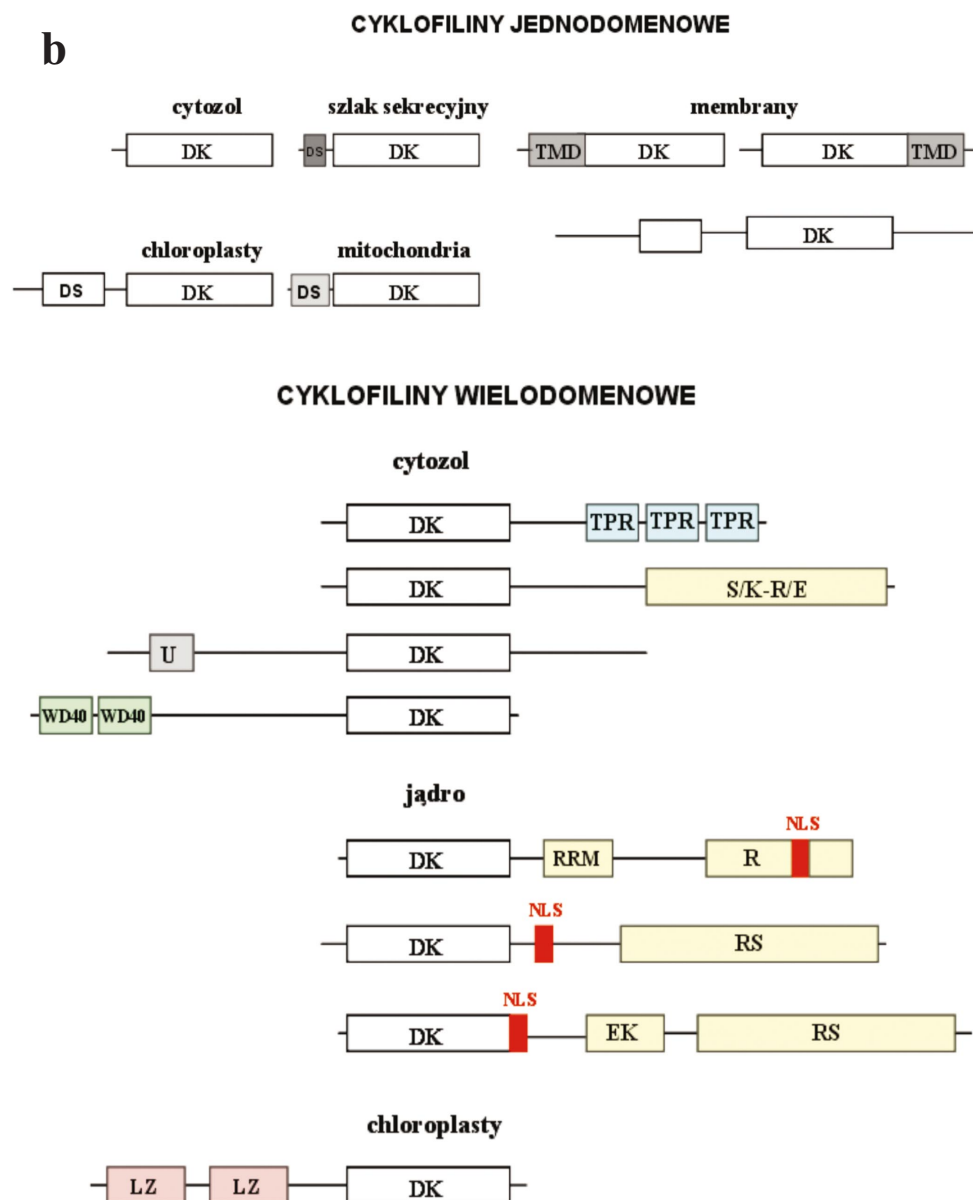


FKBP WIELODOMENOWE



thaliana: DK – domena katalityczna; DS – sekwencja docelowa; TMD – domena transmembranowa; TPR – powtórzenia TPR; S/K-R/E – rejony bogate w reszty Ser/Lys-Arg/Glu; U – domena U-box; CaM – domena wiążąca kalmodulinę; WD40 – powtórzenia WD40; RRM – motyw rozpoznający RNA; R – rejon bogaty w Arg; NLS – sekwencja lokalizacji jądrowej; EK – rejon bogaty w reszty Glu-Lys; RS – rejon bogaty w reszty Arg-Ser; LZ – zamek leucynowy ([34, 75] zmienione)

ich liczbę, wyodrębniono dwie klasy immunofilin: jednodomenowe, SD (ang. *Single Domain*) i wielodomenowe, MD (ang. *Multidomain*) [34, 75, 76]. Dodatkowo, w obrębie tych klas wyróżniono kilka grup białek o zróżnicowanych właściwościach i funkcjach.



RYCINA 3b. Opis obok

2.1. Subdomeny i subkomórkowa lokalizacja białek FKBP i CYP

2.1.1. Klasa SD

Członkowie klasy jednodomenowej charakteryzują się obecnością konserwatywnej domeny katalitycznej oraz występowaniem lub brakiem specyficznych sekwencji sygnałowych, kierujących białka do miejsca ich ostatecznej lokalizacji. Klasa SD stanowi najliczniejszą grupę immunofilin roślinnych. Obejmuje 16 izoform białek FKBP i 21 białek CYP zlokalizowanych głównie w cytozolu i w chloroplastach [34]. Największą frakcję (około 50%) stanowią białka, zawierające przy końcu aminowym presekwencję (zwaną także sekwencją tranzytową) kierującą białka do przestrzeni tylakoidowej [12, 34, 67, 73, 75]. Dodatni ładunek sekwencji docelowej oraz obecność w jej składzie dwóch reszt argininy sugeruje, że źródłem energii dla transportu białek przez błonę tylakoidu jest gradient pH [42, 60, 61]. Potwierdzeniem tego mogą być wyniki badań *in vitro* nad importem zlokalizowanych w świetle tylakoidów białek AtFKBP13 i AtCYP20-3 [29, 34, 75, 76]. Dostępne dane wskazują również na występowanie immunofilin klasy jednodomenowej w retikulum endoplazmatycznym, jądrze komórkowym i w mitochondriach (ryc. 3a, b) [34]. Ponadto niektóre cyklofiliny z tej grupy mogą wiązać się z błonami [74]. Warto zaznaczyć, że dotychczas u *A. thaliana* zidentyfikowano tylko dwie immunofiliny: AtCYP21-3 i AtCYP21-4 zlokalizowane w mitochondriach [75]. Pomimo że rola tych białek nie została jeszcze poznana, sugeruje się, że mitochondrialne cyklofiliny roślinne mogą pełnić podobne funkcje jak ich homologii zwierzęce [3]. Przypuszczalnie regulują one przepuszczalność błony mitochondrialnej oraz odgrywają istotną rolę w śmierci komórki apoptotycznej i nekrotycznej [50, 78]. Inne immunofiliny jednodomenowe, takie jak: AtCYP19-4, AtCYP20-1, AtCYP21-1, AtCYP21-2, AtCYP23, AtFKBP15-1 i AtFKBP15-2, są kierowane na szlak sekrecyjny. W przeciwieństwie do zlokalizowanych w retikulum endoplazmatycznym białek FKBP, cyklofiliny kierowane do tego kompartmentu nie mają sygnału retencji przy końcu karboksylowym [75].

2.1.2. Klasa MD

Tylko dziewięć genów dla cyklofilin i siedem dla białek FKBP obecnych w genomie *A. thaliana* koduje immunofiliny wielodomenowe [34, 75, 76]. Białka tej klasy mogą występować w cytozolu, chloroplastach i w jądrze komórkowym (ryc. 3a, b) [75, 76]. Przedstawiciele klasy MD oprócz typowej dla immunofilin konserwatywnej domeny katalitycznej (bądź kilku domen katalitycznych) mają dodatkową domenę (-y) funkcjonalną. Warto przy tym zaznaczyć, że obecność wielu kopii domen katalitycznych stwierdzono tylko u niektórych białek FKBP, takich jak: AtFKBP42, AtFKBP62, AtFKBP65 i AtFKBP72. Ponadto w przeciwieństwie do białek FKBP, cechą charakterystyczną cyklofilin należących do klasy wielodomenowej jest bardzo duże zróżnicowanie domen funkcjonalnych. Wśród nich wyróżniono domenę U-box, domeny typu palca cynkowego i zamka leucynowego, powtórzenia WD-40, powtórzenia TPR (ang. *Tetratricopeptide Repeat*) [5, 75] oraz domeny charakterystyczne dla białek wchodzących w interakcje z RNA, tj. motyw RRM (ang. *RNA Recognition Motif*), rejon bogaty w reszty S/K-R/E oraz domenę bogatą w reszty Glu-Lys, tzw. EK lub Arg/Ser, tzw. RS [51, 53, 90].

3. STRUKTURA ROŚLINNYCH IMMUNOFILIN

Badania z wykorzystaniem krystalografii rentgenowskiej, a następnie analiza porównawcza sekwencji aminokwasowej poszczególnych izoform białkowych, pozwoliły określić strukturę drugorzędową roślinnych immunofilin. Pomimo braku istotnego podobieństwa pomiędzy członkami należącymi do rodziny FKBP i CYP, wszystkie immunofiliny mają kieszeń dla wiązania immunosupresorów [44, 49, 71]. Wykazano, że związki te trwale wiążą się z enzymem naśladując jego naturalne substraty, co w rezultacie powoduje nieznaczną reorganizację tego rejonu oraz prowadzi do zablokowania centrum aktywnego rotamazy [63].

3.1. Budowa białek FKBP

Najlepiej poznane, a zarazem najpowszechniej występujące białko wiążące FK506 to FKBP12. FKBP12 jest rozpuszczalnym, cytozolowym receptorem dwóch immunosupresorów: FK506 i rapamycyny [71]. Głównymi elementami budowy tego białka są: pięciopasmowa, antyrównoległa struktura pofałdowanej harmonijki β i pojedyncza, krótka helisa α tworząca rdzeń hydrofobowy [44]. W płytkim wydrążeniu między helisą i harmonijką znajduje się centrum aktywne oraz miejsce wiązania ligandu [91]. W kieszeni wiążącej ligand występują charakterystyczne, konserwatywne aminokwasy aromatyczne: Trp59, Tyr82 i Phe99, których obecność stwierdzono w innych białkach z tej rodziny.

3.2. Budowa cyklofilin

Pierwszym białkiem wiążącym cyklosporynę A, którego strukturę najlepiej poznano, była ludzka cyklofilina A. Badania krystalograficzne wykazały, że tworzy ją osiem antyrównoległych struktur β osłoniętych przez dwie amfipatyczne helisy α [1]. Rejon domeny katalitycznej stanowią silnie konserwatywne aminokwasy tworzące centrum aktywne enzymu, takie jak: Arg55, Phe60, Asn102, Phe113, Leu122 i His 126 [37, 49]. Natomiast reszta tryptofanowa w pozycji 121 jest miejscem wiązania CsA [75]. Analiza porównawcza sekwencji aminokwasowej wykazała, że unikatową cechą roślinnych cyklofilin jest obecność trzech insercji zlokalizowanych w rejonach połączeń β -I/ β -II (3 lub 4 reszty aminokwasowe), β -IV/ β -V (8 reszt aminokwasowych) i β -VI/ α -II (3–7 reszt aminokwasowych) [75].

4. EKSPRESJA GENÓW KODUJĄCYCH ROŚLINNE IMMUNOFILINY

Dane wielu autorów sugerują, że znaczna liczba genów dla immunofilin ulega ekspresji konstytutywnej w obrębie całej rośliny [5, 22, 41, 45]. Tym niemniej ekspresja niektórych izoform jest tkankowo-specyficzna. Na przykład cztery białka należące do klasy jednodomenowej: AtFKBP16-4, AtFKBP26-2, AtCYP22 i AtCYP28 z *A. thaliana* występują

zarówno w przestrzeni, jak i w błonach tylakoidowych [12, 15, 67, 73, 76]. Natomiast białko AtCYP20-3 jest obecne wyłącznie w stromie chloroplastów [82]. Inne izoformy, np. AtCYP26-1, są syntetyzowane wyłącznie w tkankach przewodzących [8, 75].

Na podstawie analizy ekspresji genów dla immunofilin stwierdzono, że niektóre z nich mogą być aktywowane pod wpływem stresów biotycznych i abiotycznych. Wzrost akumulacji transkryptów odnotowano w odpowiedzi na atak patogenów, szok termiczny, zranienie, jak również na obecność związków chemicznych, w tym chlorku rtęci i kwasu salicylowego [10, 22, 45, 52, 81]. Podwyższony poziom mRNA dla genów kodujących cyklofiliny u psianki (*Solanum commersoni*), bobu (*Vicia faba*) i kukurydzy (*Zea mays*) obserwowano również pod wpływem chłodu, suszy, zasolenia i ABA [22, 38, 58, 86].

5. RÓŻNORODNOŚĆ FUNKCJONALNA ROŚLINNYCH IMMUNOFILIN

Większość funkcji, jakie immunofiliny mogą pełnić w komórkach roślin, wykazano jedynie w warunkach *in vitro*. Wydaje się, że udział immunofilin w procesie fałdowania białek ma związek nie tylko z ich aktywnością izomerazową, ale również z przypisywaną im funkcją białek opiekuńczych. Prawdopodobnie w roślinach poddanych działaniu stresu immunofiliny mogą funkcjonować jako białka „opiekuńczo-podobne”, gdyż chronią nowo syntetyzowane łańcuchy białkowe przed ich agregacją i proteolityczną degradacją. Potwierdzeniem ochronnej roli tych białek było wykazanie, że niektóre immunofiliny mogą tworzyć kompleksy z białkami opiekuńczymi. Na przykład cyklofiliny Cpr6 i Cpr7 z *Saccharomyces cerevisiae* oraz białko AtFKBP-42 z *A. thaliana* mogą asocjować z białkiem Hsp90 [7, 43, 57].

Ciekawym odkryciem było stwierdzenie, że immunofiliny biorą udział w zależnej od ubikwityny degradacji białek [28]. Badania wykazały, że immunofiliny stymulują mechanizmy naprawcze biorące udział w degradacji białek o uszkodzonej pod wpływem stresu strukturze [4]. Interesującym przykładem jest przedstawiciel klasy wielodomenowej – cyklofilina AtCYP65. Przy końcu aminowym cząsteczki białka zlokalizowano 60-aminokwasowy rejon o wysokiej homologii do domeny U-box. U-box jest zmodyfikowaną domeną typu *RING finger* (ang. *Really Interesting New Gene*) [26, 27, 28]. Występowanie domeny U-box stwierdzono m.in. u kilku ligaz ubikwitylowych. Ligazy ubikwitylowe są wielopodjednostkowymi kompleksami białkowymi, w których określone podjednostki biorą udział w rozpoznaniu przeznaczonego do degradacji substratu i dołączeniu do niego łańcucha poliubikwitylowego lub pojedynczymi polipeptydami, w których określone fragmenty cząsteczki pełnią tę rolę [28, 33]. Roślinne białka z domeną U-box zostały podzielone na pięć klas, które przypuszczalnie spełniają w komórce różne funkcje [4].

Ciekawym przykładem jest również cyklofilina AtCYP71, która na końcu aminowym ma dwa rejony o dużej homologii do sekwencji konsensusowych typu WD40. Obecność sekwencji WD40 stwierdzono między innymi w białku COP1 biorącym udział w regulacji fotomorfogenezy [70, 84, 85]. Wykazano, że oddziaływanie represora COP1 z czynni-

kiem transkrypcyjnym HY5 prowadzi do degradacji białka HY5 w układzie proteolitycznym (szlak ubiquityna/proteasom 26) [35, 36, 64, 79].

W ostatnich latach udowodniono również, że niektóre cytoplazmatyczne formy cyklofilin wykazują aktywność endonukleolityczną zależną od jonów wapnia i magnezu. Stąd przypisuje się im potencjalną rolę w apoptozie [55, 59].

Zdaniem wielu autorów pewne immunofiliny klasy wielodomenowej mogą brać udział w procesie konstytutywnego i alternatywnego splicingu oraz na różnych etapach dojrzewania cząsteczek RNA [47, 53, 54]. Na przykład w białku AtCYP59 zidentyfikowano motyw RRM, którego obecność stwierdzono również u wielu białek biorących udział w potranskrypcyjnym dojrzewaniu różnych rodzajów RNA (pre-mRNA, mRNA, pre-tRNA, cpRNA i małe jądrowe RNA) [2]. Inne cyklofiliny, takie jak AtCYP63 i AtCYP95, mają charakterystyczne dla białek SR (ang. *Splicing Factors Containing Ser-Arg Repeats*) domeny bogate w reszty Arg/Ser. Prawdopodobnie białka te mogą uczestniczyć w procesach związanych z formowaniem spliceosomu, interakcjach intron-egzon lub w wyborze właściwych miejsc splicingowych [24, 32]. Inna cyklofilina AtCYP59 przypuszczalnie bierze udział w wiązaniu RNA, ssDNA i w interakcjach białko-białko, albowiem w cząsteczce białka AtCYP59 zidentyfikowano domenę typu palca cynkowego istotną w tego typu oddziaływaniach [56].

Eksperymenty z wykorzystaniem systemu dwuhybrydowego pozwoliły zidentyfikować białka, z którymi oddziałują immunofiliny. Na przykład cyklofilina AtCYP18-3 silnie i specyficznie wiąże się z endonukleazą VirD2 z *Agrobacterium tumefaciens*, co wskazuje na jej potencjalną rolę w początkowych etapach integracji T-DNA do genomu roślinnego [9]. Co więcej, udowodniono, że CsA blokuje transformację *A. thaliana* i tytoniu (*Nicotiana tabacum*) za pomocą systemu *Agrobacterium tumefaciens*. Ostatnio zidentyfikowano również białko AtCYP5, które wchodzi w interakcję z czynnikiem wymiany GTP tzw. GNOM. Wykazano, że zasocjowany z błoną czynnik GNOM kieruje transportem pęcherzyków u wielu organizmów [25, 87]. W ostatnich latach uzyskano dodatkowe informacje o roli immunofilin w kierowaniu transportem białek [66].

6. CHLOROPLASTY – OGNISKOWY PUNKT DZIAŁANIA IMMUNOFILIN

Badania nad specyficznością oddziaływań enzymu z ligandem pozwoliły zidentyfikować immunofiliny w odległych kompartmentach komórkowych. Zaskakującym odkryciem było stwierdzenie, że pewne izoformy cyklofilin i białek FKBP występują w zielonych tkankach, a ich ekspresja jest indukowana światłem. Wykazano, że białka te są zlokalizowane w chloroplastach. Aktualnie wiadomo, że 15 izoform immunofilin występuje w przestrzeni tylakoidowej [76]. Przykładem może być występująca w świetle tylakoidu i w błonach tylakoidowych cyklofilina wielodomenowa TLP40 ze szpinaku (*Spinacea oleracea*) [73]. Przy końcu aminowym białka TLP40 zidentyfikowano domenę typu zamka leucynowego, która uczestniczy w wiązaniu białkowej fosfatazy, a przy końcu

karboksylowym ma domenę o aktywności izomerazowej. Udowodniono, iż nagły wzrost temperatury powoduje oddysocjowanie białka TLP40 od błony do światła tylakoidu, gdzie oddziałując z białkową fosfatazą moduluje jej aktywność. W rezultacie dochodzi do defosforylacji białek centrum reakcji fotosystemu II [73, 88].

Ostatnie dowody wskazują na istotną rolę stanu redoks w regulacji funkcji immunofilin [76]. Reakcje oksydoredukcyjne stanowią złożony system szlaków obejmujący fotosystem I i II oraz kompleks cytochromowy b_6f [83]. Wynikiem ich działania jest wytworzenie zredukowanych ekwiwalentów wykorzystywanych do syntezy węglowodanów w cyklu Calvina. Badania wykazały, że stan redoks reguluje transkrypcję genów kodowanych zarówno przez genom jądrowy, jak i chloroplastowy. Tym samym odgrywa on kluczową rolę w regulacji biologii chloroplastów na wielu poziomach [65, 69]. Za pośrednictwem specyficznych białek regulatorowych, tzw. tioredoksyn, redoks może być wskaźnikiem stanu energii w chloroplastach włączając bądź wyłączając aktywności wielu enzymów fazy ciemnej fotosyntezy. Dotychczas najlepiej scharakteryzowaną immunofiliną, której aktywność znajduje się pod kontrolą potencjału oksydoredukcyjnego, jest białko AtFKBP13 z *A. thaliana*. Aktualne dane wskazują na obecność trzech funkcjonalnie odległych form białka, które różnią się lokalizacją i stanem redoks [23]. Kluczowym odkryciem było stwierdzenie, że w przeciwieństwie do innych białek enzymatycznych, aktywacja białka AtFKBP13 następuje w wyniku utlenienia. Natomiast redukcja białka przez tioredoksynę hamuje jego aktywność enzymatyczną [27]. Tylko katalitycznie aktywna forma AtFKBP13 może brać udział w dojrzewaniu innych białek zlokalizowanych w przestrzeni i błonach tylakoidowych. Ostatnio udowodniono, że AtFKBP13 oddziałuje z podjednostką białka Rieske wchodzącą w skład kompleksu cytochromowego b_6f . Uważa się, że stan redoks odgrywa także rolę w funkcjonowaniu innych immunofilin, w tym zlokalizowanej w stromie cyklofiliny AtCYP20-3. Białko AtCYP20-3 pierwotnie zostało zidentyfikowane jako potencjalny substrat dla chloroplastowej tioredoksyny-*m* [61, 75]. Wykazano, że utleniona forma AtCYP20-3 jest katalitycznie nieaktywna, a jej aktywność izomerazowa może być przywrócona w wyniku redukcji przez chloroplastową tioredoksynę-*m*. Od niedawna wiadomo również, że białko AtCYP20-3 może oddziaływać w warunkach *in vitro* z peroksyredoksyną [48].

Warto wspomnieć, że dalece spokrewnionym, a zarazem interesującym przedstawicielem chloroplastowych immunofilin klasy wielodomenowej jest czynnik inicjujący TIG. Czynnik inicjujący jest białkiem opiekuńczym, który wiąże się z nowo syntetyzowanym łańcuchem polipeptydowym tuż po wynurzeniu się z rybosomu i przyspiesza jego fałdowanie (20–100x). Ostatnie dane dowodzą, że czynnik TIG może wiązać się z kompleksem cząsteczek rozpoznających sygnał rybosomowy, tzw. SRP (ang. *Ribosome-Signal Recognition Particle*) [6, 21].

Mówiąc o funkcji, jaką immunofiliny pełnią w chloroplastach, należałoby również zaznaczyć, że niektóre cyklofiliny mogą uczestniczyć w sekwestracji i ochronie białek chloroplastowych przeznaczonych do degradacji [82].

7. ROLA IMMUNOFILIN W ROZWOJU ROŚLIN

Większość danych na temat funkcji immunofilin we wzroście i różnicowaniu się komórek pochodzi z badań nad mutantami rozwojowymi *A. thaliana*. Jednym z nich jest mutant SQUINT, który charakteryzuje się zredukowaną liczbą liści i zmianami w ich morfologii [5]. Złożony fenotyp obserwowany u mutantu SQUINT jest spowodowany mutacją w genie *SQN*. Analiza sekwencji aminokwasowej białka SQN wykazała wysoką homologię do cyklofiliny CYP40 z *A. thaliana*. Przy końcu aminowym białka SQN zidentyfikowano obecność domeny o aktywności izomerazowej, a przy końcu karboksylowym trzech motywów TPR [8]. Badania wykazały, że białko CYP40 pełni ważną funkcję w początkowych etapach rozwoju siewek, jak również w morfogenezie kwiatów i położeniu pąków kwiatowych [5].

Dodatkowe dowody wskazujące na rolę wielodomenowych białek FKBP w rozwoju roślin pochodzą z charakterystyki mutantów określanych terminem *twisted dwarf 1* (*TWD*) [19] i *ultracurvata 2* (*UCU2*) [68]. Oba mutanty oznaczają się pleiotropowym fenotypem. Pod względem morfologicznym rośliny charakteryzują się obecnością karłowatych liści, zniekształconych korzeni i łodyg oraz występowaniem kilku, małych kwiatów, co jest przyczyną częściowej redukcji płodności. Ponadto obserwuje się helikalne skrócenie wielu organów. Okazało się, że skrajny fenotyp reprezentowany przez mutanty *TWD* i *UCU2* jest spowodowany mutacją w genie *AtFKBP42* [43]. W strukturze białka *AtFKBP42* można wyróżnić obecną przy końcu aminowym nieaktywną domenę izomerazową, domenę TPR, trzy motywy wiążące kalmodulinę oraz zlokalizowaną przy końcu karboksylowym domenę transmembranową [75]. Badania wykazały, że zakotwiczone w błonie białko *AtFKBP42* występuje zarówno w membranach wakuolarnych, jak i plazmatycznych [19, 20, 43].

Pojawiają się coraz nowsze dowody przemawiające za rolą immunofilin w procesie rozwoju roślin. Ostatnio zidentyfikowano i scharakteryzowano zlokalizowane w jądrze białko KIN241 z *Paramecium tetraurelia*, które bierze udział w morfogenezie komórki i reorganizacji jądra [46]. Analiza sekwencji ujawniła, że KIN241 wykazuje dużą homologię do cyklofiliny *AtCYP59* z *A. thaliana*. Znane jest również białko *AtFIP37* oddziałujące z *AtFKBP12*, którego funkcja jest istotna w rozwoju bielma i na wczesnych etapach embriogenezy [89].

PODSUMOWANIE

W ostatnich latach obserwuje się prawdziwy renesans badań funkcji immunofilin roślinnych. Ciągłe jeszcze dużo pytań dotyczących roli tych białek w komórkach pozostaje bez odpowiedzi. Obecny stan wiedzy pozwala przypuszczać, że „cele” białek CYP i FKBP w komórce są różnorodne i specyficzne dla poszczególnych izoform. Wydaje się zatem słusznym stwierdzenie, że enzymy te odgrywają ważną rolę w biologii wielu organizmów.

PODZIĘKOWANIE

Autorka pracy dziękuje Panu doc. dr hab. Tadeuszowi Roratowi za cenne uwagi w trakcie pisania pracy.

LITERATURA

- [1] AGARWAL PK. Enzymes: An integrated view of structure, dynamics and function. *Microbial Cell Factories* 2006; **5**: 2–40.
- [2] ALBR MM, AND PAGCS M. Plant proteins containing the RNA-recognition motif. *Trends Plant Sci* 1998; **3**: 15–21.
- [3] ARPAGAU S, RAWYLER A, BRAENDLE R. Occurrence and characteristics of the mitochondrial permeability transition in plants. *J Biol Chem* 2002; **277**: 1780–1787.
- [4] AZEVEDO C, SANTOS-ROSA MJ, SHIRASU K. The U-box protein family in plants. *Trends Plant Sci* 2001; **6**: 354–358.
- [5] BERARDINI TZ, BOLLMAN K, SUN H, POETHIG RS. Regulation of vegetative phase change in *Arabidopsis thaliana* by cyclophilin 40. *Science* 2001; **291**: 2405–2407.
- [6] BUSKIEWICZ I, DEUERLING E, GU SQ, JÖCKEL J, RODNINA MV, BUKAU B, WINTERMEYER W. Trigger factor binds to ribosome-signal-recognition particle (SRP) complexes and is excluded by binding of the SRP receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 7902–7906.
- [7] CARRELLO A, ALLAN RK, MORGAN SL, OWEN BA, MOK D, WARD BK, MINCHIN RF, TOFT DO, RATAJCZAK T. Interaction of the Hsp90 cochaperone cyclophilin 40 with Hsc70. *Cell Stress Chaperones* 2004; **9**: 167–181.
- [8] CHOU IT, GASSER CS. Characterization of the cyclophilin gene family of *Arabidopsis thaliana* and phylogenetic analysis of known cyclophilin proteins. *Plant Mol Biol* 1997; **35**: 873–892.
- [9] DENG WY, CHEN LS, WOOD DW, METCALFET, LIANG XY, GORDON MP, COMAI L, NESTER EW. *Agrobacterium* VirD2 protein interacts with plant host cyclophilins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 7040–7045.
- [10] DUAN H, SCHULER MA. Differential expression and evolution of the *Arabidopsis* CYP86A subfamily. *Plant Physiol* 2005; **137**: 1067–1081.
- [11] DUMONT FJ. FK506, an immunosuppressant targeting calcineurin function. *Curr Med Chem* 2000; **7**: 731–748.
- [12] EDVARDSSON A, ESHAGHI S, VENER AV, ANDERSSON B. The major peptidyl-prolyl isomerase activity in thylakoid lumen of plant chloroplasts belongs to a novel cyclophilin TLP20. *FEBS Lett* 2003; **542**: 137–141.
- [13] EISENMESSER EZ, BOSCO DA, AKKE M, KERN D. Enzyme dynamics during catalysis. *Science* 2002; **295**: 1520–1523.
- [14] FISCHER G, AUMÜLLER T. Regulation of peptide bond *cis/trans* isomerization by enzyme catalysis and its implication in physiological processes. *Rev Physiol Biochem Pharmacology* 2003; **148**: 105–150.
- [15] FRISCO G, GIACOMELLI L, YTTERBERG AJ, PELTIER J-B, RUDELLA A, SUN Q, VAN WIJK KJ. In-depth analysis of the thylakoid membrane proteome of *Arabidopsis thaliana* chloroplasts: new proteins, new functions and a plastid proteome database. *Plant Cell* 2004; **16**: 478–499.
- [16] GALAT A. Sequence diversification of the FK506-binding proteins in several different genomes. *Eur J Biochem* 2000; **267**: 4945–4959.
- [17] GALAT A. A note on clustering the functionally-related paralogues and orthologues of proteins: a case of the FK506-binding proteins (FKBPs). *Comput Biol Chem* 2004; **2**: 129–140.
- [18] GASSER CS, GUNNING DA, BUDELIER KA, BROWN SM. Structure and expression of cytosolic cyclophilin peptidyl-prolyl *cis/trans* isomerase of higher-plants and production of active tomato cyclophilin in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; **87**: 9519–9523.
- [19] GEISLER M, KOLUKISAOGLU HU, BOUCHARD R, BILLION K, BERGER J, SAAL B, FRANGNE N, KONCZ-KALMAN Z, KONCZ C, DUDLER R, BLAKESLEE JJ, MURPHY AS, MARTINOIA E, SCHULZ B. *TWISTED DWARF1*, a unique plasma membrane-anchored immunophilin-like protein, interacts with *Arabidopsis* multidrug resistance-like transporters AtPGP1 and AtPGP19. *Mol Biol Cell* 2003; **1**: 4238–4249.

- [20] GEISLER M, GIRIN M, BRANDT S, VINCENZETTI V, PLAZA S, PARIS N, KOBAE Y, MAESHIMA M, BILLION K, KOLUKISAOGLU UH, SCHULZ B, MARTINOLA E. *Arabidopsis* immunophilin-like TWD1 functionally interacts with vacuolar ABC transporters. *Mol Biol Cell* 2004; **15**: 3393–3405.
- [21] GENEVAUX P, KEPPEL F, SCHWAGER F, LANGENDIJK-GENEVAUX PS, HARTL FU, GEORGOPOULOS C. *In vivo* analysis of the overlapping functions of DnaK and trigger factor. *EMBO Rep* 2004; **5**: 195–200.
- [22] GODOY AV, LAZZARO AS, CASALONGUE CA, SAN SEGUNDO B. Expression of a *Solanum tuberosum* cyclophilin gene is regulated by fungal infection and abiotic stress conditions. *Plant Sci* 2000; **152**: 123–134.
- [23] GOPLAN G, HE Z, BALMER Y, ROMANO P, GUPTA R, HÉROUX A, BUCHANAN BB, SWAMINATHAN K, LUAN S. Structural analysis uncovers a role for redox in regulating FKBP13, an immunophilin of the chloroplast thylakoid lumen. *PNAS* 2004; **38**: 13945–13950.
- [24] GRAVELEY BR. Sorting out the complexity of SR protein functions. *RNA* 2000; **6**: 1197–1211.
- [25] GREBE M, GADEA J, STEINMANN T, KIENTZ M, RAHFELD JU, SALCHERT K, KONCZ C, JURGENS G. A conserved domain of the *Arabidopsis* GNOM protein mediates subunit interaction and cyclophilin 5 binding. *Plant Cell* 2000; **12**: 343–356.
- [26] GRZELAKOWSKA-SZTABERT B. Proteoliza białek regulujących przebieg cyklu komórkowego – udział ubikwitynacji. *Post Biochem* 2002; **48**: 34–47.
- [27] GRZELAKOWSKA-SZTABERT B. Oligo- i monomeryczne ligazy ubikwitynowe E3 z domeną RING finger – budowa i działanie. *Post Biol Kom* 2004; **31**: 373–392.
- [28] GRZELAKOWSKA-SZTABERT B. Zależna od ubikwityny degradacja białek. Nagroda Nobla z chemii w 2004 roku. *Kosmos* 2005; **2–3**: 133–148.
- [29] GUPTA R, MOULD RM, HE Z, LUAN S. A chloroplast FKBP interacts with and affects the accumulation of Rieske subunit of cytochrome bf complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 15806–15811.
- [30] HAFIZI S, MORDI VN, ANDERSSON KM, CHESTER AH, YACOUN MH. Differential effects of rapamycin, cyclosporine A, and FK506 on human coronary artery smooth muscle cell proliferation and signalling. *Vascular Pharmacology* 2005; **41**: 167–176.
- [31] HARRAR Y, BELLINI C, FAURE J-D. FKBP: at the crossroads of folding and transduction. *Trends Plant Sci* 2001; **6**: 426–431.
- [32] HASTINGS ML, KRAINER AR. Functions of SR proteins in the U12-dependent AT-AC pre-mRNA splicing pathway. *RNA* 2001; **7**: 471–482.
- [33] HATAKEYAMA S, NAKAYAMA KI. U-box proteins as a new family of ubiquitin ligases. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **302**: 635–645.
- [34] HE Z, LI L, LUAN S. Immunophilins and Parvulins. Superfamily of peptidyl prolyl isomerases in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2004; **134**: 1248–1267.
- [35] HOECKER U, QUAIL PH. The phytochrome A – specific signaling intermediate SPA1 interacts directly with COP1, a constitutive repressor of light signaling in *Arabidopsis*. *J Biol Chem* 2001; **276**: 38173–38178.
- [36] HOLM M, HARDTKE CS, GAUDET R, DENG XW. Identification of a structural motif that confers specific interaction with the WD40 repeat domain of *Arabidopsis* COP1. *EMBO J* 2001; **20**: 118–127.
- [37] HOWARD BR, VAJDOS FF, LI S, SUNDQUIST WI, HILL CHP. Structural insights into the catalytic mechanism of cyclophilin A. *Nature Struct Biol* 2003; **6**: 475–481.
- [38] HUANG W, LIN QF, LI GY, ZHAO WM. Identification and expression analysis of the cyclophilin gene in *Kandelia candel* under stress of salt. *Shi Yan Sheng Wu Xue Bao* 2003; **36**: 209–214.
- [39] HUR S, BRUCE TC. The mechanism of *cis-trans* isomerization of prolyl peptides by cyclophilin. *J Am Chem Soc* 2002; **124**: 7303–7313.
- [40] IVERY MT. Immunophilins: switched on protein binding domains? *Med Res Rev* 2000; **20**: 452–484.
- [41] JACKSON K, SOLL D. Mutation in a new *Arabidopsis* cyclophilin disrupt its interaction with protein phosphatase 2A. *Mol Gen Genet* 1999; **262**: 830–838.
- [42] JOHNSON G. Controversy remains: regulation of pH gradient across the thylakoid membrane. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 570–571.
- [43] KAMPHAUSEN T, FANGHANEL J, NEUMANN D, SCHULZ B, RAHFELD JU. Characterization of *Arabidopsis thaliana* AtFKBP42 that is membrane-bound and interacts with Hsp90. *Plant J* 2002; **32**: 263–276.
- [44] KOCHER I, STRZADALA L. FK506-binding proteins in the regulation of transcription factors activity in T cells. *Post Hig Med Dośw* 2004; **27**: 118–127.
- [45] KONG HY, LEE SC, HWANG BK. Expression of pepper cyclophilin gene is differentially regulated during the pathogen infection and abiotic stress conditions. *Physiol Mol Plant Pathol* 2001; **59**: 189–199.

- [46] KRZYWICKA A, BEISSON J, KELLER AM, COHEN J, JERKA-DZIADOSZ M, KLOTZ C. KIN241: A gene involved in cell morphogenesis in *Paramecium tetraurelia* reveals a novel protein family of cyclophilin-RNA interacting proteins (CRIPs) conserved from fission yeast to man. *Mol Microbiol* 2001; **42**: 257–267.
- [47] LAMBERMON MH, SIMPSON GG, WIECZOREK , KRIK DA, HEMMINGS-MIESZCZAK M, KLAHRE U, FILIPOWICZ W. UBP1, a novel hnRNP-like protein that functions at multiple steps of higher plant nuclear pre-mRNA maturation. *EMBO J* 2000; **19**: 1638–1649.
- [48] LEE SP, HWANG YS, KIM YJ, KWON KS, KIM HJ, KIM K, CHAE HZ. Cyclophilin binds to peroxidoredoxins and activates its peroxidase activity. *J Biol Chem* 2001; **276**: 29826–29832.
- [49] LI G, CUI Q. What is special about Arg 55 in the catalysis of cyclophilin A? Insights from hybrid QM/MM simulations. *J Am Chem Soc* 2003; **125**: 15028–15038.
- [50] LIN DT, LECHLEITER JD. Mitochondrial targeted cyclophilin D protects cells from cell death by peptidyl prolyl isomerization. *J Biol Chem* 2002; **277**: 31134–31141.
- [51] LIN CHL, LEU S, LU MCH, OUYANG PIN. Over-expression of SR-cyclophilin, an interaction partner of nuclear pinin, releases SR family splicing factors from nuclear speckles. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **321**: 638–647.
- [52] LUAN S, LANE WS, SCHREIBER SL. pCyp B: A chloroplast-localized, heat shock-responsive cyclophilin from Fava bean. *Plant Cell* 1994; **6**: 885–892.
- [53] LORKOVIĆ ZJ, BARTA A. Genome analysis: RNA recognition motif (RRM) and K homology (KH) domain RNA-binding proteins from the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res* 2002; **30**: 623–635.
- [54] LORKOVIĆ ZJ, LOPATOS S, PEXA M, LEHNER R, BARTA A. Interaction of *Arabidopsis* RE domain containing cyclophilins with SR proteins and U1 and U11 small nuclear ribonucleoprotein-specific proteins suggest their involvement in pre-mRNA splicing. *J Biol Chem* 2004; **32**: 33890–33898.
- [55] MANTECA A, SANCHEZ J. Recombinant cyclophilins lack nuclease activity. *J Bacteriol* 2004; **18**: 6325–6326.
- [56] MATTHEWS JM, SUNDE M. Zing fingers-folds for many occasions. *IUBMB Life* 2002; **54**: 351–355.
- [57] MAYR CH, RICHTER K, LILIE H, BUCHNER J. Cpr6 and Cpr7, two closely related Hsp90-associated immunophilins from *Saccharomyces cerevisiae*, differ in their functional properties. *J Biol Chem* 2000; **275**: 34140–34146.
- [58] MEZA-ZAPEDA LA, BAUDO MM, PALVA ET, HEINO P. Isolation and characterization of a cDNA corresponding to a stress-activated cyclophilin gene in *Solanum commersoni*. *J Exp Bot* 1998; **49**: 1451–1452.
- [59] MONTAGUE JW, HUGHES FM, CIDLOWSKI J, CIDLOWSKI JA. Native Recombinant cyclophilins A, B, and C degrade DNA independently of peptidylprolyl *cis-trans*-isomerase activity. *J Biol Chem* 1997; **272**: 6677–6684.
- [60] MORI H, CLINE K. Post-translational protein translocation into tylakoids by the Sec and DeltapH-dependent pathways. *Biochem Biophys Acta* 2001; **1541**: 80–90.
- [61] MOTOHASHI K, KONDOH A, STUMPP MT, HISABORI T. Comprehensive survey of proteins targeted by chloroplast tioredoxin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **98**: 11224–11229.
- [62] NAKAMURA T. Molecular cloning, characterization, and chromosomal localization of FKBP23, a novel FK506-binding protein with Ca²⁺-binding ability. *Genomics* 1998; **54**: 89–98.
- [63] NEYE H. Mutation of FKBP associated protein 48 (FAP48) at proline 219 disrupts the interaction with FKBP12 and FKBP52. *Regul Pept* 2001; **97**: 147–152.
- [64] OSTERLUND MT, HARDTKE CS, WEI N, DENG XW. Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of *Arabidopsis*. *Nature* 2000; **405**: 462–466.
- [65] OSWALD O, MRTIN T, DOMINY PJ, GRAHAM AG. Plastid redox state and sugars: interactive regulators of nuclear-encoded photosynthetic gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **98**: 2047–2052.
- [66] PATTERSON CE, SCHAUB T, COLEMAN EJ, DAVIS EC. Developmental regulation of FKBP65. An ER-localized extracellular matrix binding-protein. *Mol Biol Cell* 2000; **11**: 3925–3935.
- [67] PELTIER JB, EMANUELSSON O, KALUME DE, YTTERBERG J, FRISO G, RUDELLA A, LIBERLES DA, SODERBERG L, ROEPSTORFF P, VON HEIJNE G, VAN WIJK KJ. Central functions of the lumenal and peripheral thylakoid proteome of *Arabidopsis* determined by experimentation and genome-wide prediction. *Plant Cell* 2002; **14**: 211–236.
- [68] PÉREZ-PÉREZ JM, PONCE MR, MICOL JL. The *ULTRACURVATA2* gene of *Arabidopsis* encodes an FKBP506-binding protein involved in auxin and brassinosteroid signaling. *Plant J* 2004; **134**: 101–117.
- [69] PFANNSCHMIDT T. Chloroplast redox signals: how photosynthesis controls its own genes. *Trends Plant Sci* 2003; **8**: 33–41.

- [70] PICKART CM. Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem* 2001; **70**: 503–533.
- [71] RAUGHT B. The target of rapamycin (TOR) proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 7037–7044.
- [72] REIMER U, FISCHER G. Local structural changes caused by peptidyl prolyl *cis/trans* isomerization in the native state of proteins. *Biophys Chem* 2002; **96**: 203–112.
- [73] ROKKA A, ARO E-M, HERRMANN RG, ANDERSSON B, VENER AV. Dephosphorylation of photosystem II reaction center proteins in plant photosynthetic membranes as an immediate response to abrupt elevation of temperature. *Plant Physiol* 2000; **123**: 1525–1535.
- [74] ROMANO PGN, EDVARDSSON A, RUBAN AV, ANDERSSON B, VENER AV, GRAY JE, HORTON P. *Arabidopsis* AtCYP20-2 is a light-regulated cyclophilin-type peptidyl-prolyl *cis-trans* isomerase associated with the photosynthetic membranes. *Plant Physiol* 2004a; **134**: 1244–1247.
- [75] ROMANO PGN, HORTON P, GRAY JE. The *Arabidopsis* cyclophilin gene family. *Plant Physiol* 2004b; **134**: 1268–1282.
- [76] ROMANO PGN, GRAY JE, HORTON P, LUAN S. Plant immunophilins: functional versatility beyond protein maturation. *New Phytol.* 2005; **166**: 753–769.
- [77] ROVIRA P, MASCARELL L, TRUFFA-BACHI P. The impact of immunosuppressive drugs on the analysis of T-cell activation. *Curr Med Chem* 2000; **7**: 673–692.
- [78] RUPNIEWSKA Z, BOJARSKA-JUNAK A. Apoptoza: Przepuszczalność błony mitochondrialnej i rola pełniona przez białka z rodziny Bcl-2. *Post Hig Med Dośw* 2004; **58**: 538–547.
- [79] SAIJO Y, SULLIVAN JA, WANG H, YANG J, SHEN Y, RUBIO V, MA L, HOECKER U, DENG XW. The COP1-SPA1 interaction defines a critical step in phytochrome A-mediated regulation of HY5 activity. *Genes and Development* 2003; **17**: 2642–2647.
- [80] SCHIENE-FISCHER C, YU C. Receptor accessory folding helper enzymes: the functional role of peptidyl prolyl *cis/trans* isomerase. *FEBS Lett* 2001; **495**: 1–6.
- [81] SCHOLZE C, PETERSON A, DIETRICH B, LUCKNER M. Cyclophilin isoforms from *Digitalis lanata*: sequences and expression during embryogenesis and stress. *J Plant Physiol* 1999; **155**: 212–219.
- [82] SCHUBERT M, PETERSSON UA, HAAS BJ, FUNK C, SCHRÖDER WP, KIESELBACH T. Proteome map of the chloroplast lumen of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* 2002; **277**: 8354–8365.
- [83] SCHÜRMANN P, JACQUOT J-P. Plant thioredoxin systems revisited. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 2000; **51**: 371–400.
- [84] SCHWECHHEIMER C, DENG XW. COP9 signalosome revisited: a novel mediator of protein degradation. *Trends Cell Biol* 2001; **11**: 420–426.
- [85] SEO SH, ISHIKAWA M, BOLLE B, BALLESTEROS ML, CHUA NH. LAF1 ubiquitination by COP1 controls photomorphogenesis and is stimulated by SPA1. *Nature* 2003; **423**: 995–999.
- [86] SHARMA AD, SINGH P. Effect of water stress on expression of a 20 kDa cyclophilin-like protein in drought susceptible and tolerant cultivars of *Sorghum*. *J Plant Biochem Bioph* 2004; **12**: 77–80.
- [87] STEINMANN T, GELDNER N, GREBE M, MANGOLD S, JACKSON CL, PARIS S, GÄLWEILER L, PALME K, JÜRGENS G. Coordinated polar localization of auxin efflux carrier PIN1 by GNOM ARF GEF. *Science* 1999; **286**: 316–318.
- [88] VENER AV, ROKKA A, FULGOSI H, ANDERSSON B, HERRMANN RG. A cyclophilin-regulated PP2A-like protein phosphatase in thylakoid membranes of plant chloroplasts. *Biochem* 1999; **38**: 14955–14965.
- [89] VESPA L, VACHON G, BERGER F, PERAZZA D, FAURE JD, HERZOG M. The immunophilin interacting protein AtFIP37 from *Arabidopsis* is essential for plant development and is involved in trichome endoreduplication. *Plant Physiol* 2004; **134**: 1283–1292.
- [90] WEIGHARDT F, COBIANCHI F, CARTWIGNI L, CHIODI I, VILLA A, RIVA S, BIAMONTI G. A novel hnRNP protein (HAP/SAF B) enters a subset of hnRNP complexes and relocates in nuclear granules in response to heat shock. *J Cell Sci* 2004; **112**: 1465–1476.
- [91] ZACHARIAS M. Rapid protein-ligand docking using soft models from molecular dynamics simulations to account for protein deformability: binding of FK506 to FKBP. *Proteins* 2004; **54**: 759–767.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 09.02.2006 r.

Przyjęto: 24.04.2006 r.

ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: akie@igr.poznan.pl