

ODBIÓR I PRZEKAZYWANIE SYGNAŁU WYWOŁANEGO ZMIANAMI POZIOMU CUKRÓW W KOMÓRKACH ROŚLIN

SUGAR SENSING AND SIGNAL TRANSDUCTION IN PLANT CELLS

Iwona CIERESZKO

Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku

Streszczenie: Zmiany stężenia cukrów w tkankach roślinnych wpływają na kiełkowanie nasion, wzrost i rozwój siewek, regulują procesy metaboliczne i ekspresję genów. Rośliny wykształciły sprawne systemy percepcji i transdukcji sygnałów wywołanych obniżeniem lub podwyższeniem poziomu cukrów. Glukoza, sacharoza, trehaloza (oraz inne cukry i ich pochodne) mogą pełnić funkcje cząsteczek sygnałowych. W pracy dyskutowana jest rola heksokinazy jako sensora wewnątrzkomórkowego oraz rola transporterów glukozy i sacharozy (i ich analogów) jako receptorów błonowych w percepcji sygnału cukrowego. Omówiono także sugerowane funkcje białek G oraz kaskad specyficznych kinaz i fosfataz białkowych w transdukcji sygnału cukrowego w komórkach roślin wyższych. Ponadto, podkreślono powiązania szlaków transdukcji sygnału wywołanego zmianą dostępności cukrów z innymi drogami sygnałnymi funkcjonującymi w komórkach roślinnych.

Słowa kluczowe: heksokinaza, percepcja sygnału cukrowego, regulacja metabolizmu, transdukcja sygnału.

Summary: Changes of sugar concentration often affect germination, plant growth, metabolic processes and the expression of numerous genes. Plants developed effective mechanisms of perception and transduction of sugar signals. Glucose, sucrose, trehalose and other sugars might serve as elicitors of plant sugar signaling. Hexokinase, sucrose and glucose transporters (and specific sugar receptors) have been proposed as components of sugar sensing machinery. Roles of G-proteins and specific serine/threonine kinases and phosphatases in sugar signal transduction in plant cell are discussed. The interaction of sugar signaling pathways with other signal transduction pathways operating in plant cells is emphasized.

Key words: hexokinase, metabolism regulation, sugar signaling, signal transduction.

1. WSTĘP

Zmiany stężenia cukrów w tkankach roślin, składu jakościowego i transportu cukrów zachodzą zarówno w ciągu doby, jak i w czasie kolejnych etapów wzrostu i rozwoju roślin. Zmiany takie mogą następować także w wyniku oddziaływania różnych czynników środowiskowych. W tkankach roślinnych wykształciły się sprawne systemy percepcji i transdukcji sygnałów wywołanych obniżeniem lub podwyższeniem dostępu cukrów. Dzięki ich funkcjonowaniu rośliny dostosowują procesy metaboliczne i wzrostowe do podaży cukrów lub zwiększają syntezę czy hydrolizę potrzebnych cukrowców. A cukry wpływają na wzrost i metabolizm roślin w ciągu całego życia: poczynając od kiełkowania, poprzez rozwój organów wegetatywnych i generatywnych aż do starzenia się.

2. CUKRY JAKO CZĄSTECZKI SYGNAŁOWE I REGULATOROWE

Cukry, pełniąc funkcje cząsteczek sygnałowych, stanowią bodziec chemiczny odbierany przez receptory komórkowe, który jest następnie przekazywany przez specyficzne przenośniki i wywołuje odpowiednie reakcje komórek lub organizmu. Cząsteczkami sygnałowymi może być wiele cukrów lub ich pochodnych. Najczęściej rolę tą przypisuje się glukozie (ewentualnie fruktozie lub ich analogom), sacharozie (turanozie i palatynozie), trehalozie oraz oligosacharynom [10, 34, 44, 56, 63, 64, 65, 67, 78].

Sacharoza jest głównym produktem fotosyntezy (wraz ze skrobią), podstawową formą transportową cukrów, substancją zapasową, donorem węgla do syntezy polisacharydów strukturalnych i zapasowych (oraz innych związków), jak również regulatorem metabolicznym i cząsteczką sygnałową [11, 21, 79, 84]. Glukoza jest głównym źródłem energii, substancją zapasową, a po ufosforylowaniu jest prekursorem syntezy wielu związków. Może być ona transportowana jedynie w obrębie komórki. Stosunkowo niedawno stwierdzono w tkankach większości badanych roślin aktywność enzymów metabolizmu trehalozy [55]. Trehalozo-6-fosforan (Tre-6-P) jest niezbędny do prawidłowego rozwoju roślin i stabilnej gospodarki cukrowej [59, 62]. Oligosacharyny to aktywne biologicznie oligosacharydy pełniące funkcje regulatorowe w komórkach roślinnych [91]. Oligosacharyny, wydzielane ze ścian komórkowych, są sygnałami indukującymi mechanizmy odpornościowe roślin – regulują ekspresję „genów obrony” po ataku patogena [39, 91].

Zmiany stężenia cukrów w tkankach wpływają na wiele procesów metabolicznych i wzrost roślin. Szczegółowo zostało to przedstawione w wielu wcześniejszych pracach eksperymentalnych i przeglądowych [5, 10, 11, 34, 44, 51, 65, 67, 75, 78]. Generalnie, nadmiar cukrów obniża intensywność fotosyntezy, a podwyższa natężenie

oddychania. Obecność glukozy w podłożu (powyżej 6%) obniża kiełkowanie i rozwój siewek [51, 75]. Cukry mogą w nieco odmienny sposób wpływać na metabolizm liści oraz tkanek importujących asymilaty. W liściach zmiany poziomu cukrowców wpływają głównie na intensywność fotosyntezy i eksport asymilatów. Natomiast w korzeniach zmiany transportu i stężenia cukrów oddziałują głównie na metabolizm oddechowy i procesy magazynowania związków organicznych [67]. Podanie egzogennej trehalozy obniża wzrost elongacyjny korzeni i powoduje nagromadzenie skrobi w liściach [74]. Tre-6-P jest niezbędny do utylizacji cukrów i wzrostu *Arabidopsis thaliana*, co stwierdzono badając rośliny transgeniczne z nadekspresją enzymów metabolizmu trehalozy (syntazy trehalozofosforanowej, fosfatazy trehalozo-fosforanowej i hydrolazy trehalozo-fosforanowej [74]. Sugeruje się, że trehaloza i Tre-6-P mogą współdziałać z cukrowymi drogami sygnałowymi regulując np. metabolizm fotosyntetyczny [59, 62]. Cukry mogą regulować podziały komórek (oddziałując na cykl komórkowy) i wpływać na ruchy organelli, np. chloroplastów [2, 65].

Regulacja procesów metabolicznych przez cukry następuje najczęściej w wyniku zmian ekspresji genów kodujących kluczowe enzymy uczestniczące, np. w reakcjach fotosyntetycznych czy oddechowych. Zmiany stężenia cukrów w tkankach roślinnych wpływają na ekspresję genów jądrowych i plastydowych, choć te ostatnie z reguły reagują na cukry znacznie wolniej [4, 10, 44, 50]. Podwyższenie stężenia cukrów z reguły powoduje represję genów kodujących białka uczestniczące w procesie fotosyntezy (szybsza represja następuje zwykle pod wpływem heksoz niż sacharozy), niedobór glukozy czy sacharozy natomiast wzmaga ekspresję tychże genów [59]. Sacharoza i glukoza stymulują ekspresję wielu genów. Na przykład ekspresja genu kodującego syntazę sacharozy (*Sus1*) indukowana jest zarówno przez glukozę, jak i sacharozę (zwłaszcza w wyższych stężeniach) [14]. Natomiast geny *Ugp* kodujące pirofosforylaze UDP-glukozy (enzym uczestniczący m.in. w procesie syntezy sacharozy w liściach) są stymulowane głównie przez sacharozę [12, 13]. Sacharoza i glukoza obniżają natomiast ekspresję genu *CitSUT1* kodującego transporter sacharozy w liściach drzewa cytrusowego [49]. Z kolei ekspresja *SUT1* w liściach ziemniaka i pomidora nie zmieniła się pod wpływem cukrów, wzrosła natomiast ekspresja *SUT2* (po podaniu sacharozy) [3]. Glukoza obniża także ekspresję genu α -amylazy (enzymu hydrolizującego skrobię) w kiełkujących nasionach jęczmienia [51]. Ekspresja *ApL3* (genu kodującego dużą podjednostkę pirofosforylasy ADP-glukozy – kluczowego enzymu syntezy skrobi) wzrasta po dostarczeniu do liści trehalozy [89]. Wzrost ekspresji *ApL3* i *ApS* (genu kodującego małą podjednostkę pirofosforylasy ADP-glukozy) następuje także po dostarczeniu sacharozy [10, 77, 85].

Badania z zastosowaniem mikromacierzy cDNA wykazały, że zarówno traktowanie roślin egzogennymi cukrami, jak i zmiana wewnątrzkomórkowej puli cukrowców wpływa na ekspresję licznych genów [4, 50, 63]. Po podaniu 167 mM glukozy do siewek *Arabidopsis* (w ciągu 3 godzin w ciemności) stymulowana była ekspresja 444 genów, natomiast ekspresja 534 genów uległa obniżeniu [63]. Glukoza, w podanym stężeniu, regulowała 82 czynniki transkrypcyjne – większość z nich podlegała represji [63]. Stwierdzono, że geny regulowane przez glukozę brały udział

we wszystkich procesach metabolicznych, wzroście i rozwoju roślin oraz odpowiedziach roślin na czynniki stresowe zarówno biotyczne, jak i abiotyczne [63].

Regulacja ekspresji genów przez cukry może następować na poziomie transkrypcji, poprzez modyfikacje potranskrypcyjne przekształceń RNA (dojrzwiania RNA) lub na poziomie translacji [65, 78, 83]. Wykazano obecność elementów SURE (ang. *Sucrose Response Element*) w regionach promotorowych niektórych genów [65, 78]. Stwierdzono, że sacharoza kontroluje syntezę czynników transkrypcyjnych bZIP grupy S (ang. *basic region leucine zipper S*) na poziomie translacji [90]. Ponadto, może także występować regulacja potranslacyjna polegająca na modyfikacjach aminokwasów przez cukry (glikozylacjach) [65].

Wpływ cukrów na ekspresję genów jest często modyfikowany przez czynniki środowiskowe, takie jak: zmiany natężenia napromieniowania czy zmiany dostępu składników mineralnych [11, 13, 28, 80].

Narzędziem pomocnym w wyjaśnieniu mechanizmów regulacji ekspresji genów i metabolizmu przez cukry mogą być mutanty „cukrowe” [71]. W celu selekcji odpowiednich mutantów zastosowano następujące strategie: (i) jeśli wysokie stężenia sacharozy (i innych cukrów) w podłożu hamują kiełkowanie i rozwój siewek, to siewki wykazujące rozwój są mutantami niewrażliwymi na cukry; (ii) nasiona niezdolne do kiełkowania (i następnie wzrostu) na podłożach zawierających stężenia cukrów niehamujące rozwoju innych roślin – to mutanty nadmiernie wrażliwe na cukry [10, 72]. Ponadto, badano reakcje na cukry określonych genów z wykorzystaniem roślin zawierających konstrukty genów reporterowych (np. z genem kodującym lucyferazę lub β -glukuronidazę). Zastosowanie powyższych strategii pozwoliło wyselekcjonować wiele mutantów *Arabidopsis thaliana* ze zmniejszoną wrażliwością lub niereagujących na podwyższenie poziomu cukrów w podłożu. Są to, między innymi, mutanty:

cai (ang. *carbohydrate insensitive*),
sun (ang. *sucrose-uncoupled*),
sis (ang. *sucrose insensitive*),
gin (ang. *glucose insensitive*),
rsr (ang. *reduced sugar response*),
mig (ang. *mannose insensitive germination*).

Wyselekcjonowano również mutanty o wzmożonej wrażliwości na cukier: *gss* (ang. *glucose super sensitive*), *sss* (ang. *sucrose super sensitive*), *hsr* (ang. *high sugar-response*) [1, 10, 72]. Mutanty w różnicowany sposób reagujące na cukry są obecnie wykorzystywane w badaniach mających na celu określenie dróg percepcji i przekazywania sygnału cukrowego [71].

3. SPOSOBY ODBIORU SYGNAŁU CUKROWEGO

Sygnał, wywołany przez cukry, odebrany przez receptory zewnątrzkomórkowe lub wewnątrzkomórkowe i następnie przekazany dalej już wewnątrz komórki, np.

przy pomocy kaskad specyficznych kinaz i fosfataz białkowych, wpływa na zmianę ekspresji genów.

Przypuszcza się, że percepcja sygnału cukrowego odbywa się w apoplasmie, podczas transportu przez błony lub wewnątrz komórki, np. w cytozolu. Sugerowano, że odbiór i transdukcja sygnału wywołanego przez cukry może następować przy udziale inwertaz zlokalizowanych w ścianie komórkowej, transporterów cukrowych w plazmolemie lub ich analogów, a także enzymu heksokinazy [10, 33, 45, 51, 65, 67, 75, 76, 78].

3.1. Rola i mechanizm działania heksokinazy

Heksokinaza (EC 2.7.1.1, HXK) była uważana za typowy enzym cytozolowy katalizujący reakcję fosforylacji heksoz (głównie glukozy lub fruktozy) z udziałem energii pochodzącej z ATP. Ostatnie badania wykazały jednak, że frakcja cytozolowa enzymu jest stosunkowo niewielka [58, 87]. W komórkach roślinnych przeważają izoformy związane z mitochondriami (w tym z zewnętrzną błoną mitochondrialną) [42]. Oprócz izoformy cytozolowej i mitochondrialnej, poznano również heksokinazy chloroplastowe, które są związane z zewnętrzną błoną chloroplastów lub zlokalizowane w stromie. Inne heksokinazy mogą być związane z błoną komórkową, a także zlokalizowano niewielką frakcję na terenie jądra komórkowego (prace cyt. w [27, 42, 58, 87]). Tak różnorodna lokalizacja komórkowa enzymu może wskazywać na inne funkcje heksokinazy niż tylko uzupełnianie komórkowej puli fosforanów heksoz i udział w glikolizie. Udowodniono, że enzym ten może pełnić funkcje receptora wewnątrzkomórkowego [24, 33, 40, 53, 75]. Najnowsze badania wykazały również udział heksokinazy w procesie programowanej śmierci komórek (PCD). Zredukowana aktywność heksokinazy związanej z zewnętrzną błoną mitochondrium (do ok. 30% kontroli) stymulowała proces PCD w komórkach liści tytoniu [20, 42].

Udział heksokinazy w odbiorze sygnału glukozowego został najpierw poznany u drożdży (w latach 80. XX wieku) (prace cyt. w [54]). Pierwsze doniesienia o sygnalnej roli heksokinazy u roślin zostały opublikowane ponad 10 lat później, m.in. przez grupę badaczy pod kierunkiem prof. Jen Sheen (prace cyt. w [10, 40]). Podwójną funkcję heksokinazy potwierdzono w następnych latach, m.in. dzięki zastosowaniu nowoczesnych metod genetyki i biologii molekularnej [24, 33, 53, 65, 67].

Udział heksokinazy w percepcji cukrów i przekazywaniu sygnału badano podając roślinom analogi cukrowe fosforylowane i niefosforylowane przez heksokinazę oraz inhibitor heksokinazy (głównie mannoheptulozę). Analogi glukozy, takie jak: 3-*O*-metyloglukoza i 6-deoksyglukoza, nie są raczej fosforylowane przez heksokinazę i nie wywołują represji genów typowej dla egzogennej glukozy. Natomiast D-mannoza i 2-deoksyglukoza są fosforylowane, lecz nie metabolizowane (lub ulegają w minimalnym stopniu dalszym przemianom) i najczęściej gromadzą się w postaci fosforanów w cytozolu [10]. Stosowano także rośliny transgeniczne z genem heksokinazy (zwłaszcza *AtHXK1*) w orientacji antysens lub nadekspresją tego genu [14, 15, 17, 40]. Rośliny z nadekspresją *AtHXK1* były znacznie bardziej wrażliwe na wyższe stężenia glukozy niż typu dzikiego [40, 75].

TABELA 1. Przykłady różnej ekspresji genów oraz zmian metabolicznych i wzrostowych wywołanych percepcją cukru / szlakiem transdukcji sygnału z udziałem heksokinazy u roślin

Stosowany cukier	Materiał roślinny	Wywołane zmiany
Glukoza (20–100 mM)	Siewki <i>Arabidopsis</i>	Obniżenie ekspresji genu <i>CAB</i> [40, 54]
Glukoza (20–100 mM)	Siewki <i>Arabidopsis</i>	Obniżenie ekspresji genu <i>RbCS</i> [40]
Glukoza i sacharoza (100 mM)	Dojrzałe liście <i>Arabidopsis</i>	Stymulacja ekspresji genu <i>SusI</i> [14]
Glukoza i sacharoza (100 mM)	Dojrzałe liście <i>Arabidopsis</i>	Stymulacja ekspresji genu <i>Rab18</i> [15]
Glukoza i sacharoza	Bulwy ziemniaka	Wzrost ekspresji genu <i>ApL3</i> [85]
–	Pomidor – transgeniczne rośliny z nadekspresją heksokinazy	Udział w regulacji procesów wzrostu, rozwoju, starzenia się roślin [17]
Mannoza (5–15 mM)	Siewki <i>Arabidopsis</i>	Hamowanie kiełkowania i rozwoju siewek [61]
Sacharoza (175 mM)	Hypokotyl rzodkiewki	Wzrost stężenia antocyjanów i ich syntezy [32]

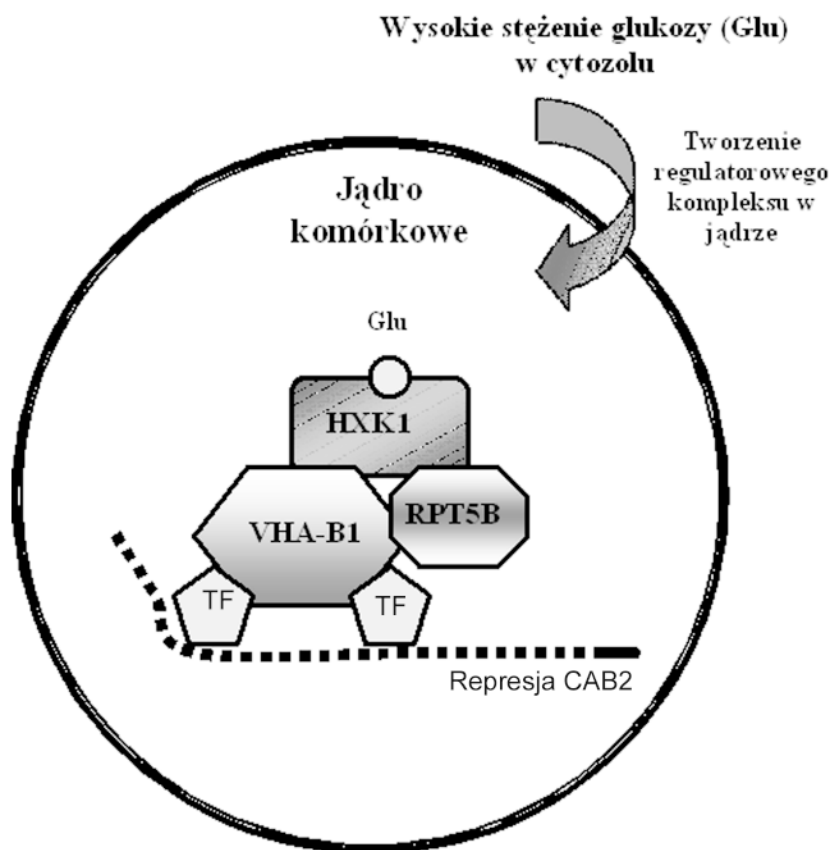
Przykładem genów w komórkach roślinnych, których ekspresja jest regulowana za pośrednictwem heksokinazy, są geny kodujące białka związane z metabolizmem fotosyntetycznym, np. najczęściej badane *CAB* (ang. *Chlorophyll A/B Binding Protein*), *RBCS*, *RBCL* (kodujące małą i dużą podjednostkę karboksylazy/oksygenazy RuBP), ulegające represji przy wyższych stężeniach glukozy (tab. 1) [40, 54]. Gen kodujący syntazę sacharozy (*SusI*) ulegał natomiast indukcji pod wpływem glukozy, sacharozy i mannozy (a także 2-deoksyglukozy), podczas gdy 3-*O*-metyloglukoza redukowała ekspresję *SusI* [14]. Sygnał, wywołany przez cukry, a prowadzący do indukcji *SusI*, był więc odbierany przy udziale heksokinazy (tab. 1). Potwierdzeniem roli heksokinazy w percepcji i przekazywaniu sygnału cukrowego były wyniki doświadczeń z zastosowaniem inhibitora tego enzymu, *N*-acetyloglukozaminy oraz roślin transgenicznych. Podanie inhibitora heksokinazy do liści *Arabidopsis* obniżało stymulujący efekt glukozy i sacharozy na ekspresję *SusI* [14]. Indukcja *SusI* była największa u roślin z nadekspresją heksokinazy potraktowanych egzogenną glukozą [14]. Sugerowano, że HXK bierze udział w regulacji procesów wzrostu, rozwoju i starzenia się roślin (tab.1) [17, 32, 40, 61].

Rola heksokinazy jako sensora cukrów u roślin budziła wiele wątpliwości i była dyskutowana przez innych badaczy [30]. Fosforylację glukozy lub fruktozy u roślin mogą katalizować inne enzymy niż niespecyficzna heksokinaza (EC 2.7.1.1), a mianowicie glukokinazy (EC 2.7.1.2) lub fruktokinazy (EC 2.7.1.4) [27, 57]. Nie wiadomo jednak, czy mogą one pełnić jakieś funkcje w transdukcji sygnału cukrowego. Nieliczne prace wskazywały na rolę fruktokinazy jako sensora cukrowego u roślin [60]. Krytykowano pogląd, że podawanie analogów cukrowych może obniżać znacząco poziom ATP, co powoduje zmianę metabolizmu i ekspresji genów [30].

Podkreślano ponadto trudności z oddzieleniem aktywności katalitycznej heksokinazy od udziału w percepcji i transdukcji sygnału cukrowego [30, 75, 78].

Ostatecznych dowodów potwierdzających udział heksokinazy w szlakach percepcji i transdukcji sygnału cukrowego dostarczyły wyniki badań opublikowane w „*Science*” przez grupę badaczy pod kierunkiem prof. J. Sheen w 2003 roku [53]. Dzięki zastosowaniu mutantów heksokinazy1, *gin2-1*, po raz pierwszy udało się badaczom oddzielić funkcje katalityczne enzymu od roli sygnałnej heksokinazy (jako wewnątrzkomórkowego sensora glukozy) [33, 53]. Wykazano, że mutacja *gin2-1* to mutacja nonsens na chromosomie IV u rzodkiewnika w kodującym obszarze genu *HXK1*. Przejawia się ona częściową utratą funkcji – aktywność katalityczna uległa redukcji do ok. 50%, natomiast poziom białka HXK1 był poniżej detekcji [53]. Wpływ mutacji na fenotyp rzodkiewnika był widoczny, zwłaszcza gdy rośliny znajdowały się w warunkach podwyższonego promieniowania. Następowala wówczas redukcja wzrostu rozety, powierzchni liści oraz opóźnienie zakwitania i zmniejszenie pędu kwiatowego. Rośliny transgeniczne *S177A* i *G104D* (skonstruowane z mutantą *gin2-1*) charakteryzowały się natomiast obniżoną produkcją białka oraz zmniejszoną aktywnością enzymatyczną heksokinazy. Wykazywały one jednak funkcje sygnałne przejawiające się represją genów kodujących białka fotosyntetyczne pod wpływem glukozy [53]. Nieznany pozostał jednak mechanizm przekazywania odbieranego przez heksokinazę sygnału cukrowego.

Wyniki badań opublikowane w 2006 roku w czasopiśmie „*Cell*” pozwoliły nieco wyjaśnić funkcjonowanie heksokinazy jako sensora wewnątrzkomórkowego. Wykazano, że HXK1, wchodząc w skład specyficznego białkowego kompleksu zlokalizowanego w jądrze komórki, może bezpośrednio oddziaływać na ekspresję genów [9]. Zaskakujący jest skład tego kompleksu. Z HXK1 współpracują białka VHA-B1 i RPT5B (ryc. 1) oraz prawdopodobnie inne elementy, np. czynniki transkrypcyjne (ang. *MYB-like* i *SCARECROW-like*) [9]. VHA-B1 jest jedną z 3 izoform podjednostki B zlokalizowanej w peryferyjnej części kompleksu V1 wakuolarniej H⁺-ATPazy. Podjednostka B jest odpowiedzialna za niekatalityczne wiązanie ATP. V-ATPaza jest związana z tonoplastem oraz z błonami systemu sekrecyjnego komórki uczestnicząc w transporcie jonów i metabolitów. Żaden element V-ATPazy nie był dotychczas lokalizowany na obszarze jądra komórkowego; nie przypuszczano także by V-ATPaza mogła brać udział w transdukcji sygnału cukrowego. RPT5B jest izoformą jednej z 6 podjednostek AAA-ATPazy, wchodzących w skład elementu 19S kompleksu degradującego białka – proteasomu 26S. 19S lokalizowano zarówno na terenie cytozolu, jak i w jądrze komórkowym. Kompleks HXK1 wraz z VHA-B1 i RPT5B formuje się tylko na terenie jądra (ryc. 1). HXK1 nie łączy się z VHA-A czy RPT1 – innymi komponentami kompleksu V1 V-ATPazy czy części regulatorowej 19S. Ponadto, połączenia HXK1 z VHA-B1 i RPT5B nie zależą od aktywności enzymatycznej heksokinazy, a mutacja inaktywująca HXK1 nie wpływa na tworzenie kompleksu [6, 9]. Mutanty *Arabidopsis vha-B1* i *rpt5b* charakteryzujące się brakiem białek VHA-B1 i RPT5B miały fenotyp podobny do mutantów *gin2* oraz były niewrażliwe na glukozę [9].



RYCINA 1. Schemat przedstawiający tworzenie regulatorowego kompleksu z udziałem heksokinazy 1 w jądrze komórki: HXK1 – heksokinaza 1; RPT5B – podjednostka części regulatorowej kompleksu 19S (szczegółowe objaśnienia w tekście); VHA-B1 – składnik kompleksu V1 wakuolarniej H-ATPazy; TF – czynniki transkrypcyjne (ang. *Transcription Factors*); zmodyfikowane wg [6,9]

Opisany mechanizm działania heksokinazy jest jednym z nielicznych przykładów tego, iż kluczowy enzym metabolizmu komórkowego (heksokinaza – enzym glikolizy) może łączyć się z innymi białkami (również o ściśle zdefiniowanej roli w komórce), a powstały kompleks pełni odmienne funkcje – uczestniczy w regulacji ekspresji genów (represji *CAB2* przez glukozę) (ryc. 1). Wiele pytań pozostaje jednak bez odpowiedzi. Nie wiadomo, jak powszechne jest użycie/zastosowanie takiego kompleksu regulatorowego. Czy bierze on udział tylko w szlakach transdukcji sygnału cukrowego? Dlaczego powstało takie nieoczekiwane dobranie komponentów kompleksu regulatorowego? Jakie czynniki i w jaki sposób stymulują tworzenie takiego kompleksu? Co przyczynia się do transportu wymienionych elementów do jądra? Czy przyłączenie cząsteczki glukozy może indukować proces transportu i tworzenia kompleksu regulatorowego? Glukoza występuje najczęściej w niskich stężeniach na terenie jądra, więc jeśli w cytozolu jej stężenie nagle wzrośnie (jak opisano w

[19]), cząsteczki mogłyby dyfundować swobodnie do jądra, łączyć się z HXK1 i zainicjować tworzenie regulatorowego kompleksu [6]. Wyjaśnienie tych wątpliwości oraz mechanizmu tworzenia i funkcjonowania regulatorowego kompleksu, z udziałem HXK1, wymaga na pewno wielu dalszych badań.

Inny mechanizm działania wewnątrzkomórkowego sensora cukrowego, HXK2, został przedstawiony dla komórek drożdżowych [54]. Wysokie stężenie glukozy powoduje defosforylację czynnika transkrypcyjnego Mig1 i jego transport z cytoplazmy do jądra. Do jądra przemieszcza się także HXK2, łączy się z Mig1, a powstały kompleks hamuje transkrypcję genów decydujących o wzroście drożdży przy wykorzystaniu innych źródeł węgla niż glukoza [34, 54]. Brak glukozy w podłożu aktywuje kinazę Snf1 fosforylującą Mig1, który w tej formie jest transportowany do cytozolu (przypuszczalnie razem z HXK2). W kolejnym etapie następuje derepresja i aktywacja genów kodujących enzymy niezbędne do hydrolizy dostępnego źródła węgla [54].

3.2. Inne receptory cukrów

Stymulacja ekspresji genów przez glukozę, sacharozę (lub inne cukry) może zachodzić niezależnie od heksokinazy. Na przykład ekspresja genu kodującego pirofosforylaze UDP-glukozy (*Ugp*) wzrastała pod wpływem sacharozy w podobnym stopniu u roślin transgeniczných z nadekspresją i obniżonym poziomem *HXK1* jak u roślin kontrolnych [12, 43]. Sygnał prowadzący do indukcji *Ugp* był więc odbierany przez inne niż heksokinaza sensory sygnału cukrowego.

Funkcje receptorów błonowych mogą pełnić nośniki białkowe cukrów, zlokalizowane w plazmolemie, lub ich analogi niepełniące roli transportera [47]. Transportery monosacharydów i disacharydów mają budowę zbliżoną do innych transporterów błonowych – składają się z 12 domen transmembranowych, przedzielonych charakterystyczną pętlą cytoplazmatyczną o różnej długości [88]. Czy mogą one pełnić funkcje receptorów sygnałów – nie wiadomo. Uważa się, iż przedłużony fragment N-końcowy oraz cytoplazmatyczna pętla położona między 6 a 7 fragmentem transmembranowym mogłyby uczestniczyć w kontaktach z innymi elementami łańcucha transdukcji sygnału [34, 88]. Białka transportujące cukry o ewentualnej roli sensorów są obecne we wszystkich organach rośliny, co stwierdzono stosując różne techniki detekcji, takie jak: systemy genów reporterowych, immunolokalizację fluorescencyjną czy hybrydyzację *in situ* [88].

Wykazano istnienie białka SUT2 (ang. *Sucrose Transporter 2*) o budowie zbliżonej do transporterów cukrowych typu SUT, ale prawdopodobnie niepełniącego funkcji przENOśnika [3]. Charakterystyczną jego cechą jest obecność dwóch konserwatywnych motywów w pętli cytoplazmatycznej: CCB1 i CCB2, które mogą mieć jakieś znaczenie w funkcji sygnałnej tego białka [3]. Gen kodujący SUT2 zlokalizowany jest w chromosomie V *Arabidopsis*. Wysoką ekspresję wykazuje on głównie w tkankach akceptorowych, w młodych liściach i łodydze, zaś w mniejszym stopniu w donorach fotoasymilatów – dojrzałych liściach. Ponadto, ekspresja tego genu jest specyficznie wzmagana po dostarczeniu do liści sacharozy [3]. Białko SUT2 ma

budowę zbliżoną do znanych już wcześniej błonowych sensorów cukrowych u drożdży: Snf3 i Rgt2 [35]

Jak może wyglądać mechanizm percepcji cukrów (np. sacharozy) przez sensory błonowe w tkankach roślinnych? Transporter sacharozy SUT1 i sensor sacharozy (np. SUT2) powinny być zlokalizowane obok siebie w rurkach sitowych floemu (podobnie jak drożdżowe receptory błonowe: Snf3 i Rgt2) [47, 51]. Domniemany sensor cukrowy mógłby regulować aktywność SUT1 bezpośrednio lub pośrednio, np. poprzez fosforylację białka. Regulacja mogłaby następować również poprzez kontrolę inaktywacji/degradacji białka-przenośnika. Regulacja ekspresji na poziomie transkrypcji wydaje się mniej prawdopodobna, gdyż transkrypcja SUT1 następuje w komórkach towarzyszących, a nie w rurkach sitowych [47, 51].

Wydaje się, że w przypadku uniwersalnego modelu percepcji cukrów w całej roślinie transporter glukozy może mieć mniejsze znaczenie niż transportery sacharozy. Na dalsze odległości floemem transportowana jest głównie sacharoza lub inne oligosacharydy obojętne, jak rafinoza czy stachioza, które docierają do wszystkich tkanek [45, 79]. Natomiast transportery glukozy funkcjonują raczej w tkankach akceptorowych, wspomagając apoplastyczny rozładunek floemu lub uczestnicząc w konwersji skrobia – sacharoza (np. w bulwach ziemniaka). Tym niemniej uważa się, że u roślin funkcjonują przynajmniej trzy drogi transdukcji sygnału wywołanego zmianą stężenia glukozy, rozpoczynające się od sensorów błonowych, które są: (i) albo przenośnikiem glukozy, (ii) albo jego analogiem wyspecjalizowanym w odbiorze sygnału cukrowego, (iii) albo transdukcja sygnału z udziałem heksokinazy [64, 65, 67, 68].

Percepcja glukozy u drożdży jest znacznie lepiej poznana niż w komórkach roślinnych. W percepcji glukozy u drożdży mogą brać udział: HXT (drożdżowy transporter heksoz), Snf3 (sensor z rodziny HXT o wysokim powinowactwie do glukozy), Rgt2 (sensor z rodziny HXT o niskim powinowactwie do glukozy), Gpr1 (białko receptorowe) [35, 68, 73].

Niektórzy badacze sugerowali udział inwertaz (EC 3.2.1.26, β -fruktofuranazydaz) w odbiorze sygnału cukrowego [45, 76, 82]. Znanych jest kilka odmian inwertaz: cytozolowa inwertaza obojętna, inwertaza kwaśna nierozpuszczalna, zlokalizowana w przestrzeniach ścian komórkowych oraz inwertaza kwaśna rozpuszczalna, znajdująca się w wakuoli [11, 69, 70]. Udział inwertaz, najprawdopodobniej izoform nierozpuszczalnych, mógłby być bezpośredni – wówczas sygnał zostałby przekazany bezpośrednio na kaskady specyficznych kinaz białkowych (lub też za pośrednictwem heksokinazy). Bardziej prawdopodobny jest udział pośredni, polegający na współdziałaniu kwaśnych inwertaz apoplastycznych z transporterem cukru lub specyficznym sensorem błonowym. Hydroliza sacharozy przebiega w różnych przedziałach komórki, zatem inne inwertazy mogłyby także współdziałać w mechanizmie percepcji cukru. Na pewno ważną rolę inwertaz jest generowanie i zwielokrotnienie sygnałów poprzez produkcję glukozy i fruktozy. Cukry te mogą bowiem niezależnie rozpoczynać szlaki transdukcji sygnałów [45, 70].

W komórkach roślinnych mogą funkcjonować też inne niż opisane receptory cukrów. Mechanizm percepcji cukrów u roślin wyższych na pewno nie jest prosty ani jednolity i jego dokładne poznanie wymaga wielu dalszych badań.

4. UDZIAŁ BIAŁEK G W TRANSDUKCJI SYGNAŁU CUKROWEGO

W roku 2006 ukazało się kilka prac doświadczalnych wskazujących na udział heterotrimerowych białek wiążących GTP (lub ich analogów) w szlakach transdukcji sygnału cukrowego u roślin [8, 37, 86]. Są to, prawdopodobnie, szlaki transdukcji niezależne od heksokinazy. Niestety, nie są znane roślinne receptory błonowe współpracujące z białkami G, odpowiadające licznym receptorom GPCR innych organizmów. Bardzo mało jest również genów kodujących białka G u roślin, np. w porównaniu z grzybami czy ssakami. U *Arabidopsis* występuje jeden gen kodujący podjednostkę α G (*AtGPA1*), jeden gen podjednostki β oraz dwa geny kodujące podjednostki γ białka G [41], a także pojedynczy gen kodujący białko regulatorowe RGS1 (ang. *The Regulator of G-protein Signaling*). Natomiast u ssaków znane są odpowiednio: 23 geny $G\alpha$, 6 $G\beta$, 12 $G\gamma$ oraz 37 RGS (cyt. za [37]).

Na udział białek G w transdukcji sygnału cukrowego wskazują badania z udziałem mutantów roślinnych z defektami produkcji podjednostek białka G. Mutanty *Arabidopsis gpa1* (brak aktywnej podjednostki α) wykazywały opóźnienie kiełkowania i rozwoju siewek przy stężeniach glukozy wynoszących 6%, podobnie jak rośliny dzikiego typu [7,8]. Natomiast nadekspresja aktywnej formy GPA1 [*GPA1*^(Q222L)] wywołała u siewek *Arabidopsis* tolerancję na wysokie stężenia glukozy [7]. Mutanty *agb1* (brak podjednostki β białka G) oprócz zmian fenotypowych (zmiany wyglądu liści i rozety) charakteryzowały się nadwrażliwością na D-glukozę (cyt. za [86]).

Białko regulatorowe RGS, stosunkowo niedawno wykryte u roślin, wpływa na aktywność GTPazową podjednostki α białka G przekształcając formę $G\alpha$ -GTP do nieaktywnej $G\alpha$ -GDP [7]. Przewidywana struktura białka AtRGS1 to 7 domen transmembranowych, z końcem C zawierającym domenę współpracującą z podjednostką α i aktywującą GTPazę [7]. Mutanty *rgs1* (niewytwarzające białka regulatorowego RGS) okazały się mniej wrażliwe na wysokie stężenia glukozy, (podczas kiełkowania i wzrostu siewek *Arabidopsis*) niż rośliny typu dzikiego [8]. Rośliny z nadekspresją RGS wykazywały natomiast nadwrażliwość na glukozę [8].

Nieznane są u roślin ani receptory współpracujące z białkami G, ani dalsze przekaźniki sygnału wywołanego przez cukry. U drożdży sygnał glukozowy odebrany przez receptory Gpr1 (GPCR, ang. *G-Protein-Coupled Receptor*) przekazywany jest za pośrednictwem GPA2 (białek G), cykazy adenylowej (i zmian stężenia cAMP) i kinaz białkowych (kinazy A) na końcowe efekторы [66, 73]. Sugeruje się, że podczas kiełkowania siewek *Arabidopsis* z podjednostką α białka G (*GPA1*) może współpracować w szlaku transdukcji glukozy poznane niedawno białko plastydowe THF1 (ang. *THylakoid Formation*) [37]. THF1 występuje w zewnętrznej błonie plastydowej, a także w stromie lub stromulach (tzn. tubularnych przedłużeniach plastydów). Stosując nowoczesną metodę FRET (ang. *Föster Resonance Energy Transfer*) badacze wykazali, że pomiędzy białkiem THF1 a GPA1 (zlokalizowanym w plazmolemie) następuje interakcja – w miejscach, gdzie stykają się dwie błony [37]. Jest to interesujący przykład komunikacji pomiędzy plastydami a błoną komórkową podczas transdukcji sygnału cukrowego, z udziałem białek G.

Wang i wsp. [86] poszukiwali czynników hamujących niekorzystne zmiany w podziałach komórek u mutantu *agb1-2* (bez podjednostki β białka G) oraz redukujących nadwrażliwość tego mutantu na glukozę. Jednym z supresorów okazało się białko SGB1, obecne w dużych ilościach w aktywnie dzielących się komórkach. Poziom białka SGB1 wzrastał po podaniu do podłoża wzrostowego cukrów. Stwierdzono, że białko SGB1 jest transporterem heksoz zlokalizowanym w błonach aparatu Golgiego i współdziała z podjednostką β białka G, AGB1, podczas wczesnego rozwoju siewek *Arabidopsis* [86]. Biologiczna funkcja tego transportera była dotychczas nieznana. Po raz pierwszy wykazano też udział białek G w procesie transportu cukrów przez błony oraz istnienie drogi transdukcji sygnału pomiędzy aparatem Golgiego a dimerem $\beta\gamma$ białka G w komórce roślinnej.

5. SKŁADNIKI ŁAŃCUCHA TRANSDUKCJI SYGNAŁU CUKROWEGO

W transdukcji sygnału wywołwanego zmiennym dostępem cukrów, a odbieranego przez receptory błonowe pośredniczą kaskady specyficznych kinaz białkowych. Obecnie znanych jest w genomie *Arabidopsis* ponad 1000 genów kodujących różnego rodzaju kinazy, na pewno niektóre z nich uczestniczą w transdukcji sygnałów cukrowych. Taką rolę sugerowano następującym kompleksom kinaz: SnRK (ang. *SNF1-Related Protein Kinases*), CDPK (ang. *Ca²⁺-Dependent Protein Kinases*), kinazom MAP (ang. *Mitogen-Activated Protein*) [31, 36, 65, 67]. W transdukcji sygnałów cukrowych biorą też udział specyficzne fosfatazy białkowe [52] oraz fitohormony (np. kwas abscysynowy czy etylen) oraz jony wapnia. Odebrany sygnał o zmianach zawartości lub zachodzącym transporcie cukrów za pośrednictwem kaskad kinaz i fosfatyz wpływa na ekspresję genów oraz przebieg procesów metabolicznych.

Serynowo-treoninowe kinazy SnRK to roślinne homologi poznanych wcześniej kinaz drożdżowych SNF1 (ang. *Sucrose-Non-Fermenting*) i zwierzęcych AMPK (kinaz aktywowanych przez AMP) [10, 29]. Geny kodujące SnRK roślin podzielono na trzy podrodziny: SnRK1, SnRK2 i SnRK3. W regulacji aktywności SnRK uczestniczy Glc-6-P oraz produkt genu *PRL1* (ang. *Pleiotropic Regulatory Locus1*) [31]. Z SnRK współpracuje kompleks białkowy SCF (analog drożdżowego białka Skp1, Cdc53, Grr1) [34]. Rola SnRK w transdukcji sygnału cukrowego nie jest dobrze poznana. Kompleks kinaz SnRK1 uczestniczy w fosforylacji syntazy sacharozofosforanowej i reduktazy azotanowej, a ufosforylowanie (z udziałem białek 14-3-3) obniża aktywność tych enzymów. Natomiast kinazy SnRK1 fosforylując białka syntazy sacharozowej i α -amylazy, aktywują te enzymy. Aktywność kinaz SnRK1 jest także regulowana poprzez fosforylację oraz przez sacharozę [31]. Wyniki niektórych badań wskazują na niezbędność SnRK1 w transdukcji sygnału sacharozowego kontrolującego ekspresję genów syntazy sacharozy [10, 29, 31]. Gen *ApL3* kodujący dużą podjednostkę pirofosforylasy ADP-glukozy jest także regulowany za pośrednictwem SnRK1 [85].

Znacznie lepiej scharakteryzowany jest kompleks SNF1 występujący u drożdży (analog roślinnych SnRK). Składa się on z podjednostki α (serynowo/treoninowej kinazy białkowej Snf1), podjednostki β (jedno z białek: Sip1, Sip2 lub Gal83) i podjednostki γ (białko Snf4) [34, 73]. W zależności od podaży glukozy w otoczeniu komórek drożdży następują odpowiednie zmiany konformacyjne podjednostek SNF1.

Inne specyficzne kinazy białkowe, CDPK występują głównie w tkankach roślin wyższych i glonów. CDPK są to serynowo-treoninowe kinazy białkowe regulowane przez jony wapnia. Charakteryzują się one obecnością regulatorowej domeny o budowie podobnej do kalmoduliny, zlokalizowanej na końcu C enzymu. Czasami kinazy CDPK są więc określane jako „*calmodulin-like domain protein kinase*” [36, 81].

Kinazy CDPK łączy się obecnie z SnRK oraz innymi kinazami o podobnej sekwencji w ogromną rodzinę, składającą się z 7 typów serynowo-treoninowych kinaz białkowych: CDPK (ang. *Calcium-Dependent Protein Kinases*), CRK (ang. *CDPK-Related Kinases*), PPCK (ang. *PhosphoenolPyruvate Carboxylase Kinases*), PEPRK (ang. *PEP Carboxylase Kinase-Related Kinases*), CaMK (ang. *CalModulin-Dependent Protein Kinases*), CcaMK (ang. *Calcium and CalModulin-Dependent Protein Kinases*) i SnRK (ang. *SNF1-Related Protein Kinases*) [36]. Analiza genomu *Arabidopsis* pozwoliła na zidentyfikowanie 34 CDPK, 8 CRK, 2 PPCK, 2 PEPRK i 38 SnRK. Obecność CDPK wykazano u roślin i *Protista* natomiast obecność CRK, PPCK, PEPRK i dwóch podgrup SnRK stwierdzono tylko u roślin [36].

Specyficzne fosfatazy białkowe dzieli się na serynowo-treoninowe fosfatazy (PPazy), takie jak: PP1 (ang. *Protein Phosphatase 1*), PP2A, PP2B, PP2C, PPM (ang. *Protein Phosphatase M*), PPP (ang. *Protein Phosphatase P*) oraz tyrozynowe fosfatazy (PTPazy) [52]. Fosfatazy PP2C u *Arabidopsis* stanowią najliczniejszą grupę fosfataz, kodowaną przez 76 genów.

Określając udział specyficznych fosfataz i kinaz białkowych w szlakach przekazywania sygnału wywołanego przez cukry i niedobór Pi, podawano roślinom inhibitory kinaz i fosfataz (np. kwas okadaikowy, staurosporynę, chlorek chelerytryny) [12, 22, 77]. Przykładowo, stymulowana przez sacharozę ekspresja genu pirofosforylasy UDP-glukozy (*Ugp*) ulegała obniżeniu po podaniu do liści kwasu okadaikowego, natomiast ekspresja genu kodującego syntezę sacharozową (*Sus1*) była indukowana przez ten inhibitor [12, 43]. Wskazuje to na udział specyficznych fosfataz białkowych, fosfoserynowo-fosfotreoninowych, typu PP1 i PP2A, w mechanizmach regulacji ekspresji genów *Ugp* i *Sus1* [12, 13, 43]. Prawdopodobnie, ufosforylowane białko, będące substratem fosfataz PP1/PP2A, uczestniczy w przekazywaniu sygnału powodującego indukcję *Sus1*; natomiast do wzmożenia ekspresji *Ugp* niezbędna jest defosforylacja tego białka [11, 12, 43].

6. WSPÓŁDZIAŁANIE SZLAKÓW SYGNALIZACJI CUKROWEJ Z INNYMI SZLAKAMI

Drogi transdukcji sygnałów wywołanych przez cukry współdziałają ze szlakami hormonalnymi oraz szlakami odpowiedzi na zmienne warunki środowiska, tworząc w komórkach roślinnych złożoną i rozległą sieć sygnalizacyjną [23, 25, 26, 28, 48,

81]. Wykazano wiele zależności między cukrami a hormonami roślinnymi – zarówno jedno, jak i drugie wpływają na embriogenezę, kiełkowanie nasion (np. regulują aktywność α -amylazy) i wczesne stadia rozwojowe roślin. Cukry mogą regulować syntezę i transport fitohormonów (np. ABA i giberelin), natomiast gibereliny, ABA oraz cytokiny uczestniczą w regulacji metabolizmu i transportu cukrów [15, 25, 26, 34, 48, 64, 92, 93].

Wyselekcjonowanie oraz charakterystyka mutantów cukrowych dostarczyła wielu dowodów na współdziałanie hormonalnych i cukrowych dróg sygnałnych [23, 25, 94]. Badając mutantą *gin1* (ang. *glucose insensitive1*) stwierdzono krzyżowanie się dróg sygnałnych wywołanych przez cukry ze szlakiem etylenowym. Fenotypy mutantów *eto1-1* (ang. *ethylene overproducing*) i *ctr1-1* (ang. *constitutive ethylene triple response*) są takie same jak mutantą *gin1* – wszystkie one nie wykazują wrażliwości na glukozę w podłożu [51]. Mutanty *sis1* i *ctr1* są do siebie fenotypowo podobne. Mutant *etr1-1* (ang. *ethylene resistant*) wykazuje natomiast nadwrażliwość na glukozę (podobnie do mutantą *gss* – ang. *glucose super sensitive*). U mutantą *gin5* obserwowano redukcję syntezy kwasu abscysynowego, gdyż okazało się, że białko GIN5 bierze udział w regulacji biosyntezy ABA [11, 65, 67, 72, 78, 94].

Wiele z wyselekcjonowanych w ostatnich latach mutantów cukrowych jest uwarunkowanych allelami tego samego genu, co znane już wcześniej mutanty hormonalne, np. *gin1*, *isi4*, *sis4* są alleliczne do *aba2*, czy też *gin6*, *isi3*, *sis5*, *sun6* są alleliczne do *abi4* [26, 38, 46, 48]. Mutant *gin6* ma np. obniżoną ekspresję genu *ABI4*, który uczestniczy w regulacji odpowiedzi roślin na ABA [26]. Większość doświadczeń przeprowadzono z użyciem siewek *Arabidopsis*, znacznie rzadziej stosowano dojrzałe rośliny. Przedstawiano m.in. modele inhibicji kiełkowania i wczesnego rozwoju siewek przez glukozę oraz ABA. Hamowanie to może odbywać się dzięki współdziałaniu glukozy i ABA w tym samym szlaku lub odrębnych szlakach. Drogi sygnałowe mogą się krzyżować lub działać niezależnie [25]. Przedstawiono hipotetyczne modele współzależności szlaków cukrowych ze szlakami sygnalizacji hormonalnej. Na przykład dostarczenie glukozy wzmacnia syntezę ABA, powstały ABA oddziałuje na fenotyp siewki. Rozwój mutantów z niedoborem kwasu abscysynowego *aba2* (a także *sis4*, *gin1*) nie jest natomiast wrażliwy na wyższe stężenia glukozy [51]. Niewrażliwy na ABA mutant *abi4* (*sis5*, *sun6*, *gin6*) nie reaguje również na glukozę we wczesnych stadiach rozwoju siewki. Dostarczenie roślinom ACC (ang. *1-AminoCyclopropano-1-Carboxylic acid*), prekursora etylenu, powoduje także powstanie fenotypu niewrażliwego na glukozę, gdyż powstający etylen wywołuje niewrażliwość na ABA (u *Arabidopsis*) [51]. Niejednokrotnie, w doświadczeniach mających na celu określenie składników szlaku transdukcji sygnału, stosowano mutanty o zmienionej syntezie kwasu abscysynowego i etylenu (np. *aba1-1*, *aba1-3*, *aba2-1*, *aba3-1*, *eto1-1*) oraz mutanty o obniżonej wrażliwości na te hormony (np. *abi1-1*, *abi2-1*, *etr1-3*, *ein2-1*). Badania własne, z zastosowaniem powyższych mutantów, nie wykazały udziału ABA i etylenu w procesie indukcji ekspresji genu pirofosforylazy UDP-glukozy wywołanego dostarczeniem egzogennej sacharozy do liści roślin oraz warunkami niedoboru fosforu [16].

Glukozowy szlak sygnałowy z udziałem HXK1 wchodzi w interakcje ze szlakiem sygnałowym regulowanym przez auksyny, cytokininy i etylen [53]. Między innymi stwierdzono, że mutanty *gin2* są niewrażliwe na auksyny, a wykazują nadwrażliwość na cytokininy [53]. Sugerowano, że zależny od heksokinazy glukozowy szlak sygnałowy w kiełkujących nasionach wpływa na mechanizm regulacji metabolizmu ABA (prace cyt. w [34]). Ponadto, po dostarczeniu cukrów do dojrzałych liści transgeniczne rośliny *Arabidopsis* z nadekspresją *HXK1* wykazywały wyższą ekspresję *Rab18* (genu regulowanego zależnie od poziomu ABA) w porównaniu z roślinami niezmodyfikowanymi genetycznie. Sygnał cukrowy prowadzący do indukcji *Rab18* był przekazywany zależnie od heksokinazy [15].

Stwierdzono, że stężenia glukozy w zakresie 0,5–5% opóźniały kiełkowanie nasion *Arabidopsis* spowalniając spadek poziomu ABA [64]. Jednak glukoza nie wpływała bezpośrednio na biosyntezę ABA czy innych hormonów [18]. Ostatnie badania wykazały, że w procesie opóźnionego kiełkowania nasion *Arabidopsis*, wywołanego działaniem glukozy, uczestniczą hormonalne drogi sygnałowe z udziałem genów *ABI3*, *RGA-like2* i *SPINDLY* [93]. Nie wykazano jednak wpływu produktów *ABI1*, *ABI2*, *ABI4*, *ABI5* na przebieg tego procesu [18]. Postuluje się natomiast udział regulatorowego białka RGS w sygnałowych szlakach cukrowych i hormonalnych (z udziałem ABA) podczas kiełkowania nasion i wzrostu siewek *Arabidopsis* na podłożu z glukozą [8].

PODSUMOWANIE

Podsumowując należy stwierdzić, że u roślin istnieje przynajmniej kilka różnych sposobów percepcji cukrów i szlaków transdukcji sygnału cukrowego. Niektóre komponenty szlaków sygnałowych są takie same lub podobne do komponentów stwierdzonych u bakterii, drożdży i w komórkach zwierzęcych (np. heksokinaza lub kinaza białkowa SNF1). Inne elementy łańcucha transdukcji sygnału cukrowego funkcjonują tylko u roślin (np. niektóre białka z rodziny CDPK-SnRK) [36]. Dokładne poznanie mechanizmów percepcji i szlaków transdukcji sygnałów cukrowych oraz ich powiązań z innymi drogami sygnałowymi wymaga jednak wielu dalszych badań. Zastosowanie w badaniach nowych mutantów i roślin transgenicznych na pewno pomoże uzupełnić naszą wiedzę dotyczącą molekularnych mechanizmów odpowiedzi roślin na zmiany podaży cukrów, zjawiska powszechnego w zmiennych warunkach środowiska.

LITERATURA

- [1] BAIER M, HEMMANN G, HOLMAN R, CORKE F, CARD R, SMITH C, ROOK F, BEVAN MW. Characterization of mutants in *Arabidopsis* showing increased sugar-specific gene expression, growth, and developmental responses. *Plant Physiol* 2004; **134**: 81–91.
- [2] BANAŚ AK, GABRYŚ H. Influence of sugars on blue light-induced chloroplast relocations. *Plant Signal Behav* 2007; **2**: 221–230.

- [3] BARKER L, KÜHN C, WEISE A, SCHULZ A, GEBHARDT C, HIRNER B, HELLMANN H, SCHULZE N, WARD JM, FROMMER WB. SUT2, a putative sucrose sensor in sieve elements. *Plant Cell* 2000; **12**: 1153–1164.
- [4] BLÄSING OE, GIBON Y, GÜNTHER M, HÖHNE M, MORCUENDE R, OSUNA D, THIMM O, USADEL B, SCHEIBLE WR, STITT M. Sugars and circadian regulation make major contributions to the global regulation of diurnal gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2005; **17**: 3257–3281.
- [5] BOREK S, RATAJCZAK W. Sugars as a metabolic regulator of storage protein mobilization in germinating seeds of yellow lupine (*Lupinus luteus* L.). *Acta Physiol Plant* 2002; **24**: 425–434.
- [6] CHEN J-G. Sweet sensor, surprising partners. *Sci STKE* 2007; **373**: pe7.
- [7] CHEN JG, WILLARD FS, HUANG J, LIANG J, CHASSE SA, JONES AM, SIDEROVSKI DP. A seven-transmembrane RGS protein that modulates plant cell proliferation. *Science* 2003; **301**: 1728–1731.
- [8] CHEN Y, JI F, XIE H, LIANG J, ZHANG J. The regulator of G-protein signaling proteins involved in sugar and abscisic acid signaling in *Arabidopsis* seed germination. *Plant Physiol* 2006; **140**: 302–310.
- [9] CHO YH, YOO SD, SHEEN J. Regulatory functions of nuclear hexokinase1 complex in glucose signaling. *Cell* 2006; **127**: 579–589.
- [10] CIERESZKO I. Regulacyjna rola cukrów. Percepcja cukrów i przekazywanie sygnału w komórkach roślinnych. *Post Biol Kom* 2002; **29**: 269–289.
- [11] CIERESZKO I. Kontrola metabolizmu sacharozy u roślin w odpowiedzi na zmienne warunki środowiska. *Kosmos* 2006; **55**: 229–241.
- [12] CIERESZKO I, JOHANSSON H, KLECZKOWSKI LA. Sucrose and light regulation of a cold-inducible UDP-glucose pyrophosphorylase gene via a hexokinase-independent, abscisic acid-insensitive pathway in *Arabidopsis*. *Bioch J* 2001; **354**: 67–72.
- [13] CIERESZKO I, JOHANSSON H, KLECZKOWSKI LA. Interactive effects of phosphate deficiency, sugar and light/ dark conditions on gene expression of UDP-glucose pyrophosphorylase in *Arabidopsis*. *J Plant Physiol* 2005; **162**: 343–353.
- [14] CIERESZKO I, KLECZKOWSKI LA. Glucose and mannose regulate the expression of a major sucrose synthase gene in *Arabidopsis* via hexokinase-dependent mechanisms. *Plant Physiol Biochem* 2002; **40**: 907–911.
- [15] CIERESZKO I, KLECZKOWSKI LA. Effects of phosphate deficiency and sugars on expression of *rab18* in *Arabidopsis*: hexokinase-dependent and okadaic acid-sensitive transduction of the sugar signal. *Biochim Biophys Acta* 2002; **1579**: 43–49.
- [16] CIERESZKO I, KLECZKOWSKI LA. Phosphate deficiency-dependent upregulation of UDP-glucose pyrophosphorylase gene is insensitive to ABA and ethylene status in *Arabidopsis* leaves. *Acta Physiol Plant* 2006; **28**: 387–393.
- [17] DAI N, SCHAFFER A, PETREIKOV M, SHAHAK Y, GILLER Y, RATNER K, LEVINE A, GRANOT D. Overexpression of *Arabidopsis* hexokinase in tomato plants inhibits growth, reduces photosynthesis, and induces rapid senescence. *Plant Cell* 1999; **11**: 1253–1266.
- [18] DEKKERS BJ, SCHUURMANS JA, SMEEKENS SC. Glucose delays seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 2004; **218**: 579–588.
- [19] DEUSCHLE K, CHAUDHURI B, OKUMOTO S, LAGER I, LALONDE S, FROMMER WF. Rapid metabolism of glucose detected with FRET glucose nanosensors in epidermal cells and intact roots of *Arabidopsis* RNA-silencing mutants. *Plant Cell* 2006; **18**: 2314–2325.
- [20] ECKARDT NA. Programmed cell death in plants: a role for mitochondrial-associated hexokinases. *Plant Cell* 2006; **18**: 2097–2099.
- [21] FARRAR J, POLLOCK C, GALLAGHER J. Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. *Plant Sci* 2000; **154**: 1–11.
- [22] FERNÁNDEZ JJ, CANDENAS ML, SOUTO ML, TRUJILLO MM, NORTE M. Okadaic acid, useful tool for studying cellular processes. *Curr Med Chem* 2002; **9**: 229–262.
- [23] FRANCO-ZORILLA JM, MARTIN AC, LEYVA A, PAZ-ARES J. Interaction between phosphate-starvation, sugar, and cytokinin signaling in *Arabidopsis* and the roles of cytokinin receptors CRE1/AHK4 and AHK3. *Plant Physiol* 2005; **138**: 847–857.
- [24] FROMMER WB, SCHULZE WX, LALONDE S. Hexokinase, jack-of-all trades. *Science* 2003; **300**: 261–263.
- [25] GIBSON SI. Plant sugar-response pathways. Part of a complex regulatory web. *Plant Physiol* 2000; **124**: 1532–1539.
- [26] GIBSON SI. Sugar and phytohormone response pathways: navigating a signalling network. *J Exp Bot* 2004; **55**: 253–264.

- [27] GONZALI S, ALPI A, BLANDO F, DE BELLIS L. *Arabidopsis* (HXK1 and HXK2) and yeast (HXK2) hexokinases overexpressed in transgenic lines are characterized by different catalytic properties. *Plant Sci* 2002; **163**: 943–954.
- [28] GUPTA AK, KAUR N. Sugar signaling and gene regulation in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *J Biosci* 2005; **30**: 761–776.
- [29] HALFORD NG, PURCELL PC, HARDIE G. SNF1-related protein kinases: global regulators of carbon metabolism in plants? *Plant Mol Biol* 1998; **37**: 735–748.
- [30] HALFORD NG, PURCELL PC, HARDIE G. Is hexokinase really a sugar sensor in plants? *Trends Plant Sci* 1999; **4**: 117–120.
- [31] HALFORD NG, HEY S, JHURREEA D, LAURIE S, MCKIBBIN RS, PAUL M, ZHANG Y. Metabolic signaling and carbon partitioning: role of Snf1-related (SnRK1) protein kinase. *J Exp Bot* 2003; **54**: 467–475.
- [32] HARA M, OKI K, HOSHIMO K, KUBOI T. Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. *Plant Sci* 2003; **164**: 259–265.
- [33] HARRINGTON GN, BUSH DR. The bifunctional role of hexokinase in metabolism and glucose signaling. *Plant Cell* 2003; **15**: 2493–2496.
- [34] HETMANN A, KOWALCZYK S. Mono- i disacharydy – drożdżowymi, roślinnymi i zwierzęcymi cząsteczkami sygnałowymi regulującymi ekspresję genów. *Post Biol Kom* 2003; **30**: 87–112.
- [35] HOLSBEEKS I, LAGATIE O, NULAND AV, DE VELDE SV, THEVELEIN JM. The eukaryotic plasma membrane as a nutrient-sensing device. *Trends Biochem Sci* 2004; **29**: 556–564.
- [36] HRABAK EM, CHAN CWM, GRIBSKOV M, HARPER JF, CHOI JH, HALFORD N, KUDLA J, LUAN S, NIMMO HG, SUSSMAN MR, THOMAS M, WALKER-SIMMONS K, ZHU J-K, HARMON AC. The *Arabidopsis* CDPK-SnRK superfamily of protein kinases. *Plant Physiol* 2003; **132**: 666–680.
- [37] HUANG J, TAYLOR JP, CHEN J-G, UHRIG JF, SCHNELL DJ, NAKAGAWA T, KORTH KL, JONES AM. The plastid protein TYLAKOID FORMATION1 and the plasma membrane G-protein GPA1 interact in a novel sugar-signaling mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2006; **18**: 1226–1238.
- [38] HUIJSER C, KORTSTEE A, PEGO J, WEISBEEK P, WISMAN E, SMEEKENS S. The *Arabidopsis* SUCROSE COUPLED-6 gene is identical to ABSCISIC ACID INSENSITIVE-4: involvement of abscisic acid in sugar responses. *Plant J* 2000; **23**: 577–585.
- [39] JAKUBOWSKA A, MURACH AP, KOWALCZYK S. Nowe cząsteczki sygnałowe i związki regulujące wzrost i rozwój roślin. *Post Biol Kom* 1996; **23**: 657–682.
- [40] JANG JC, LEÓN P, SHEEN J. Hexokinase as a sugar sensor in higher plants. *Plant Cell* 1997; **9**: 5–19.
- [41] JONES AM, ASSMANN SM. Plants: the latest model system for G-protein research. *EMBO Rep* 2004; **5**: 572–578.
- [42] KIM M, LIM J-H, AHN CS, PARK K, KIM GT, KIM WT, PAI H-S. Mitochondria-associated hexokinases play a role in the control of programmed cell death in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell* 2006; **18**: 2341–2355.
- [43] KLECZKOWSKI LA, GEISLER M, CIERESZKO I, JOHANSSON H. UDP-glucose pyrophosphorylase. An old protein with new tricks. *Plant Physiol* 2004; **134**: 912–918.
- [44] KOCH KE. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1996; **47**: 509–550.
- [45] KOCH K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Curr Opin Plant Biol* 2004; **7**: 235–246.
- [46] LABY RJ, KINCAID MS, KIM D, GIBSON SI. The *Arabidopsis* sugar-insensitive mutants *sis4* and *sis5* are defective in abscisic acid synthesis and response. *Plant J* 2000; **23**: 587–596.
- [47] LALONDE S, BOLES E, HELLMANN H, BARKER L, PATRICK JW, FROMMER WB, WARD JM. The dual function of sugar carriers: transport and sugar sensing. *Plant Cell* 1999; **11**: 707–726.
- [48] LEÓN P, SHEEN J. Sugar and hormone connections. *Trends Plant Sci* 2003; **8**: 110–116.
- [49] LI YC, SHI JX, WEISS D, GOLDSCHMIDT EE. Sugars regulate sucrose transporter gene expression in citrus. *Bioch Bioph Res Com* 2003; **306**: 402–407.
- [50] 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.
- [51] LORETI E, DE BELLIS L, ALPI A, PERATA P. Why and how do plant cells sense sugars? *Ann Bot* 2001; **88**: 803–812.
- [52] LUAN S. Protein phosphatases in plants. *Annu Rev Plant Biol* 2003; **54**: 63–92.

- [53] MOORE B, ZHOU L, ROLLAND F, HALL Q, CHENG W-H, LIU Y-X, HWANG I, JONES T, SHEEN J. Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling. *Science* 2003; **300**: 332–336.
- [54] MORENO F, AHUATZI D, RIERA A, PALOMINO CA, HERRERO P. Glucose sensing through the Hxk2-dependent signalling pathway. *Biochem Soc Trans* 2005; **33**: 265–268.
- [55] MÜLLER J, AESCHBACHER RA, WINGLER A, BOLLER T, WIEMKEN A. Trehalose and trehalase in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2001; **125**: 1086–1093.
- [56] NIELSEN TH, RUNG JH, VILLADSEN D. Fructose-2,6-bisphosphate: a traffic signal in plant metabolism. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 556–563.
- [57] OESTERHELT C, GROSS W. Different sugar kinases are involved in the sugar sensing in *Galdieria sulphuraria*. *Plant Physiol* 2002; **128**: 291–299.
- [58] OLSSON T, THELANDER M, RONNE H. A novel type of chloroplast stromal hexokinase is the major glucose-phosphorylating enzyme in the moss *Physcomitrella patens*. *J Biol Chem* 2003; **278**: 44439–44447.
- [59] PAUL MJ, PELLNY TK. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *J Exp Bot* 2003; **54**: 539–547.
- [60] PEGO JV, SMEEKENS SCM. Plant fructokinases: a sweet family get-together. *Trends Plant Sci* 2000; **5**: 531–536.
- [61] PEGO JV, WEISBEEK PJ, SMEEKENS SCM. Mannose inhibits *Arabidopsis* germination via a hexokinase-mediated step. *Plant Physiol* 1999; **119**: 1017–1023.
- [62] PENNA S. Building stress tolerance through over-producing trehalose in transgenic plants. *Trends Plant Sci* 2003; **8**: 355–357.
- [63] PRICE J, LAXMI A, MARTIN SKST, JANG J-C. Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2004; **16**: 2128–2150.
- [64] PRICE J, LI T-C, KANG SG, NA JK, JANG J-C. Mechanism of glucose signaling during germination of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2003; **132**: 1424–1338.
- [65] 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.
- [66] ROLLAND F, DE WINDE JH, LEMAIRE K, BOLES E, THEVELEIN JM, WINDERICKX J. Glucose-induced cAMP signalling in yeast requires both a G-protein coupled receptor system for extracellular glucose detection and a separable hexose kinase-dependent sensing process. *Mol Microbiol* 2000; **38**: 348–358.
- [67] ROLLAND F, MOORE B, SHEEN J. Sugar sensing and signaling in plants. *Plant Cell* 2002; Suppl: 185–205.
- [68] ROLLAND F, WINDERICKX J, THEVELEIN JM. Glucose-sensing mechanisms in eukaryotic cells. *Trends Biochem Sci* 2001; **26**: 310–317.
- [69] ROITSCH T, BALIBREA ME, HOFMANN M, PROELS R, SINHA AK. Extracellular invertase: key metabolic enzyme and PR protein. *J Exp Bot* 2003; **54**: 513–524.
- [70] ROITSCH T, GONZÁLES MC. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 607–613.
- [71] ROOK F, BEVAN MW. Genetic approaches to understanding sugar-response pathways. *J Exp Bot* 2003; **54**: 495–501.
- [72] ROOK F, CORKE F, CARD R, MUNZ G, SMITH C, BEVAN MW. Impaired sucrose-induction mutants reveal the modulation of sugar-induced starch biosynthetic gene expression by abscisic acid signalling. *Plant J* 2001; **26**: 421–433.
- [73] SANTANGELO GM. Glucose signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Rev* 2006; **70**: 253–282.
- [74] SCHLUEPMANN H, PELLNY T, VAN DIJKEN A, SMEEKENS S, PAUL M. Trehalose 6-phosphate is indispensable for carbohydrate utilization and growth in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 6849–6854.
- [75] SHEEN J, ZHOU L, JANG J-C. Sugars as signaling molecules. *Curr Opin Plant Biol* 1999; **2**: 410–418.
- [76] SHERSON SM, ALFORD HL, FORBES SM, WALLACE G, SMITH SM. Roles of cell wall invertases and monosaccharide transporters in the growth and development of *Arabidopsis*. *J Exp Bot* 2003; **54**: 525–531.
- [77] 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.

- [78] SMEEKENS S. Sugar-induced signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 2000; **51**: 49–81.
- [79] STARCK Z. Transport i dystrybucja substancji pokarmowych w roślinach. Wydawn. SGGW, Warszawa 2003.
- [80] STARCK Z. Różnorodne funkcje węgla i azotu w roślinach. *Kosmos* 2006; **55**: 243–257.
- [81] STĘPIEŃ K. Transdukcja sygnałów w komórce roślinnej pod wpływem stresów abiotycznych. *Post Biol Kom* 2002; **29**: 595–612.
- [82] STURM A, TANG G-Q. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. *Trends Plant Sci* 1999; **4**: 401–407.
- [83] SUN C, PALMQVIST S, OLSSON H, BOREN M, AHLANDSBERG S, JANSSON C. A novel WRKY transcription factor, SUSIBA2, participates in sugar signaling in barley by binding to the sugar-responsive elements of the *isol* promoter. *Plant Cell* 2003; **15**: 2076–2092.
- [84] SZADEL A, LORENC-PLUCIŃSKA G. Metabolizm sacharozy u roślin oraz jego regulacja w warunkach stresów środowiskowych. *Post Biol Kom* 2002; **29**: 47–59.
- [85] TIESSEN A, PRESCHA K, BRANSCHIED A, PALACIOS N, MCKIBBIN R, HALFORD NG, GEIGENBERGER P. Evidence that SNF1-related kinase and hexokinase are involved in separate sugar-signalling pathways modulating post-translational redox activation of ADP-glucose pyrophosphorylase in potato tubers. *Plant J* 2003; **35**: 490–500.
- [86] WANG HX, WEERASINGHE RR, PERDUE TD, CAKMAKCI NG, TAYLOR JP, MARZLUFF WF, JONES AM. A Golgi-localized hexose transporter is involved in heterotrimeric G protein-mediated early development in *Arabidopsis*. *Mol Biol Cell* 2006; **17**: 4257–4269.
- [87] WILSON JE. Isozymes of mammalian hexokinase: structure, subcellular localization and metabolic function. *J Exp Biol* 2003; **206**: 2049–2057.
- [88] WILLIAMS LE, LEMOINE R, SAUER N. Sugar transporters in higher plants – a diversity of roles and complex regulation. *Trends Plant Sci* 2000; **5**: 283–290.
- [89] WINGLER A, FRITZIUS T, WIEMKEN A, BOLLER T, AESCHBACHER RA. Trehalose induces the ADP-glucose pyrophosphorylase gene, *ApL3*, and starch synthesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2000; **124**: 105–114.
- [90] WIESE A, ELZINGA N, WOBBS B, SMEEKENS S. A conserved upstream open reading frame mediates sucrose-induced repression of translation. *Plant Cell* 2004; **16**: 1717–1729.
- [91] WOJTASZEK P. Ściana komórkowa. W: Wojtaszek P, Woźny A, Ratajczak L [red.] *Biologia komórki roślinnej. Struktura*. Wyd Nauk PWN, Warszawa 2006: 227–269.
- [92] YOSHIDA KT, FUJIWARA T, NAITO S. The synergistic effects of sugar and abscisic acid on myo-inositol-1-phosphate synthase expression. *Physiol Plant* 2002; **114**: 581–587.
- [93] YUAN K, WYSOCKA-DILLER J. Phytohormone signalling pathways interact with sugars during seed germination and seedling development. *J Exp Bot* 2006; **57**: 3359–3367.
- [94] ZHOU L, JANG JC, JONES TL, SHEEN J. Glucose and ethylene signal transduction crosstalk revealed by an *Arabidopsis* glucose-insensitive mutant. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 10294–10299.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 25.06. 2007 r.

Przyjęto: 21.11. 2007 r.

Uniwersytet w Białymstoku

Świerkowa 20 B, 15-950 Białystok

E-mail: icier@uwb.edu.pl