

A mitokondrium új szerepkörben

SZARKA András*

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszer-tudományi tanszék, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Laboratórium, Műgyetem rakpart 3. 1111 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Az eukarióta sejt – saját genetikai állománnyal rendelkező – sejtszervecskéjére, a mitokondriumra hosszú időn keresztül csak, mint a sejt energiaellátásáért felelős kompartmentumára gondoltunk. Nem csoda, hisz a mitokondriális mátrixban található a sejt energiaháztartásának több fontos eleme: a citrát-ciklus, a zsírsav-oxidáció enzimszervelete. A mitokondriális belső membránban helyezkedik el többek között az előző folyamatok által szolgáltatott redukált koenzimek oxidációjáért, valamint az oxidáció során felszabadult energia ATP formájában történő konzerválásáért felelős respirációs elektrontranszfer lánc és az ATP-szintáz komplex.

A mitokondrium, ebből a kizárólagos energiaközpont szerepből a nyolcvanas-kilencvenes években, a programozott sejthalál (apoptózis) felderítésével kezdett kitörni. Gerincesekben a kaszpáz-függő apoptózis két fő útvonalon játszódhat le: az extrinszik és az intrinszik úton. Az extrinszik útvonal elindítását egy transzmembrán halál receptor (pl. FAS) és annak extracelluláris ligandjának (pl. FASL) találkozása indítja el. Az intrinszik útvonal, amely mitokondriális útvonal néven is ismert (ezzel is utalva a mitokondrium folyamatban betöltött szerepére) kulcsmomentuma a mitokondriális külső membrán permeabilitásának növekedése és ennek következtében a két membrán közötti térben található fehérjék citoszolba történő kiáramlása.^{1,2} Az ezredfordulóra az állati mitokondriumok mellett bizonyítottá vált a növényi mitokondriumok apoptózisban vállalt szerepe is.^{3,4} Sőt fény derült arra, hogy a növényi mitokondrium, számos abiotikus stresszre adott válaszreakció fontos szereplője.⁵ Így például mentőútvonalat biztosít a Calvin-ciklus korlátozott működése esetén, részt vesz az ozmoprotektív prolin anyagcseréjében, központi szerepe van a növényi sejt redox homeosztázisának fenntartásában, valamint celluláris stressz szenzorként szabályozza a programozott sejthalál folyamatát.⁵ A növényi sejt egyik döntő reaktív oxigénvegyület (ROS) forrása és ezen molekulák elsődleges célpontja maga a mitokondrium.⁶⁻⁸ Így nem meglepő, hogy a mitokondrium egy igen hatékony – enzimes és nem enzimes elemekből álló – antioxidáns védelmi rendszert épített ki. Ezen rendszer kiemelkedő hangsúlyt kap biotikus és abiotikus stressz, különösen szárazság és sóstressz esetében.⁹ A növények tehát csak abban az esetben képesek a különféle környezeti stresszhatásokat tolerálni, ha hatékony védelmet alakítanak ki az oxidatív stressz ellen.

Ez a védelem két elemből állhat: 1. A már fennálló oxidatív stressz kivédése – a már említett – enzimes és kis molekulásúlyú antioxidánsokkal, 2. Az oxidatív stresszt kiváltó okok (pl. ozmotikus stressz) elleni védekezés.

2. Egy fontos kis molsúlyú antioxidáns: a C-vitamin

A C-vitamin, vagy aszkorbinsav kiemelkedő szereppel bír a sejtek antioxidáns kapacitásának biztosításában, mind a növények, mind az állatok esetében. Antioxidáns funkciója mellett számos enzim kofaktora. Igen fontos szerepet tölt be a megfelelő fehérje-térszerkezet kialakulásában egyrészt, mint a prolil-hidroxiláz kofaktora,¹⁰ másrészt kis molsúlyú elektronszállító molekulaként részt vesz a fehérje diszulfid-kötések kialakulásában.¹¹⁻¹³ Hiánybetegségében, a skorbutban a fehérjék térszerkezete sérül, majd a sejtek apoptotizálnak.¹⁴

Az ember néhány más emlőssel egyetemben (pl.: tengerimalac, gyümölcssevő denevér) elveszítette az aszkorbinsav bioszintézisének képességét,¹⁵ ezért megszerzésére külsőleges, elsősorban növényi forrásokra szorulunk. Ezt a tényt figyelembe véve különösen érdekes, hogy az aszkorbát szintézisére képes állatokban (pl.: patkány) folyó reakciók mintegy négy évtizede ismeretesek, addig a növényekben folyó aszkorbát bioszintézis útvonala a közelmúltig ismeretlen volt.

Az aszkorbinsav *de novo* bioszintézise gulonolaktón-oxidáz aktivitással rendelkező állatfajokban a hexuronsav úton zajlik. A hexuronsav útvonal során az aszkorbinsav D-glukózból képződik, amely egyaránt származhat a glikogenolízisből, a glukoneogenezisből, vagy akár a glukóz extracelluláris felvételéből, így az aszkorbinsav bioszintézise és a szénhidrát anyagcsere kölcsönösen befolyásolhatják egymást.^{16,17} Az útvonal első szakasza a citoszolban zajlik, az utolsó három enzimes lépés az endoplazmás retikulumhoz kötött.¹⁵

3. A mitokondrium szerepe az aszkorbinsav anyagcserében

3.1. A növényi mitokondrium és az aszkorbinsav bioszintézis

A nemrégiben feltárt növényi aszkorbinsav bioszintetikus útvonal jelentős különbséget mutat az állati szervezetben megismert bioszintetikus útvonalhoz képest. A bioszintézis ez esetben is D-glukózból indul ki. A Wheeler és Smirnov által javasolt aszkorbát bioszintetikus út közti termékei: a fruktóz-6-foszfát, mannoz-6-foszfát, mannoz-1-foszfát, GDP-mannóz, GDP-galaktóz, L-galaktóz és az L-galaktón-1,4-lakton.¹⁸ Csökkent aszkorbinsav szinttel rendelkező mutánsokról (vtc1-4) több ízben is beszámoltak,¹⁹ ellenben a mai napig nem ismert életképes, teljesen aszkorbinsav hiányos növény. Ennek oka feltételezhetően az, hogy az

* Tel.: +36-1-4633858, fax: +36-1-4633855, email: szarka@mail.bme.hu

aszorbinsav bioszintetikus útvonal köztitermékei más fontos szerepet is betöltenek a növényi sejt életében.²⁰

A bioszintézis folyamatai az utolsó lépésig a citoszolban folynak, azonban az utolsó lépést katalizáló enzim, az L-galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz (GLDH) a mitokondrium belső membránjában található.²¹ A galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz az oxidált citokróm c-t használja elektronakceptorként a galaktono-1,4-lakton aszorbinsavvá történő oxidációja során. A kísérletek egyértelműen arra utalnak, hogy az L-galaktono-1,4-lakton alternatív elektrondonorként elektronokat juttat az elektrontranszport lánc III-as és IV-es komplexe közé, ezáltal az aszorbinsav bioszintézisét a mitokondriális légzési elektrontranszfer lánchoz köti²² (1. ábra). A két folyamat kapcsolatát tovább árnyalja az a megfigyelés, mely szerint az I-es komplexen keresztül folyó elektronáram nagymértékben befolyásolja, sőt elengedhetetlen a megfelelő szintű aszorbinsav bioszintézishez. Ezen megfigyelések különösen érdekesek annak a ténynek a tükrében, hogy az I-es komplexek egy része a galaktono-1,4-lakton dehidrogenázzal asszociáltan található a növényi mitokondriumban.²³ Könnyen elképzelhető, hogy az I-es komplexek ezen alcsoportja egy további szerepkörrel is bír, a komplexen átmenő elektronáram alapján regulálja az aszorbinsav bioszintézisét. A legutóbbi megfigyelések szerint igen valószínű, hogy ez a kapcsolat kétirányú, mivel megfelelő számú I-es komplex csak abban az esetben jöhet létre, ha azokhoz galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz kapcsolódik.²⁴

3.2. A mitokondrium szerepe az aszorbinsav regenerációjában

Az aszorbinsav miközben ellátja antioxidáns és enzim kofaktor szerepét elektronokat ad le az aszorbátból aszorbil gyök, majd dehidroaszorbát (DHA) keletkezik. Az ellentétes irányú redukzív folyamatnak rövid időn belül be kell következnie, különben a DHA végérvényesen elvész, a fiziológiás pH-n néhány perc alatt felnyíló laktongyűrű miatt. Szent-Györgyi Albert már 1928-ban megfigyelte, hogy a „redukáló szubsztancia” GSH, mint redukálószer segítségével visszanyerhető oxidált alakjából. A dehidroaszorbát glutationnal történő redukciója enzimek távollétében is lejátszódó kémiai reakció.²⁵ Az aszorbinsav és a glutation között fennálló kapcsolatot és annak funkcióját először kloroplasztban mutatták ki.²⁶ A keletkezett dehidroaszorbát glutation terhére dehidroaszorbát redukáz segítségével aszorbinsavvá redukálódik. A reakció során keletkezett glutation diszulfid, glutation redukáz segítségével NADPH felhasználásával redukálódik vissza glutationná.²⁷ A H₂O₂ eliminálásának és a DHA redukálásának ezen útvonalát aszorbinsav-glutacion, vagy felfedezőiről Foyer-Halliwell-Asada ciklusnak nevezik.

Néhány évvel ezelőtt a ciklus valamennyi enzimét kimutatták növényi mitokondriumban is.^{28,29} Ez a tény valószínűsítette, hogy a mitokondrium nem csak az aszorbát bioszintézisben, hanem annak DHA-ból történő redukációjában is szerepet játszik.

A további kísérletek megerősítették a ciklus funkcionalitását, valamint meghatározták az enzimek mitokondriumban való elhelyezkedését. Az aszorbát peroxidáz feltételezhetően a belső membránban elhelyezkedő enzim, amelynek

aktív helye a két membrán közötti tér felé néz. A monodehidroaszorbát redukáz szintén a mitokondriális belső membránban foglalhat helyet, ellenben aktív helye nagy valószínűséggel a mátrix felé néz. A ciklus további két enzime a dehidroaszorbát redukáz és a glutation-redukáz döntő többsége a mátrixban, kisebb hányada a két membrán közötti térben található.²⁸

3.3. Mitokondriális aszorbát/dehidroaszorbát transzport

A ciklus minden enzime ismert volt, azonban egy igen fontos összekötőelem még hiányzott. A dehidroaszorbát redukációjáért felelős enzimek mindegyike a mitokondriális mátrixban helyezkedik el, míg a dehidroaszorbát produkciójáért felelős aszorbát-peroxidáz aktív helye a két membrán közötti tér felé néz.²⁸ Ahhoz, hogy a mitokondrium ténylegesen részt tudjon venni az aszorbinsav regenerációjában, mindenképpen léteznie kell egy mitokondriális aszorbinsav/dehidroaszorbát transzporternek, hiszen a dehidroaszorbátnak valahogyan redukációjának helyszínére a mátrixba, a redukálódott aszorbátnak pedig onnan ki kell jutnia.

Bár sejteni lehetett létezését a mitokondriális aszorbinsav transzportfolyamatot csak a közelmúltban sikerült leírni, jellemeznünk. Laboratóriumunkban BY-2 dohánysejtekből izolált mitokondriumok esetében megállapítottuk, hogy a mitokondrium mind a redukált forma aszorbátot, mind az oxidált forma dehidroaszorbátot felveszi.³⁰ A redukált forma transzportja meglehetősen kis affinitást mutatott ($K_M = 36$ mM), ellentétben a dehidroaszorbátéval ($K_M = 6$ mM). Itt érdemes megjegyezni, hogy a növényi sejtek citoszoljában az aszorbát koncentrációja 20 mM körül van,²⁷ valamint a kloroplaszt aszorbát transzporterének K_M értéke is 18-40 mM közé esik.³¹ A dehidroaszorbát preferenciája sem egyedi. Az aszorbinsav emlős sejtek esetében mind redukált állapotban Na⁺ ion gradiens terhére, mind oxidált formában facilitatív glukóz transzporterek révén képes a sejtbe jutni.³² Hasonlóképpen preferált a dehidroaszorbát forma az aszorbáttal szemben növények plazmamembránján keresztül zajló C-vitamin transzportfolyamatok során is.^{33,34} Sejtszervecskék esetében is beszámoltak mind az oxidált, mind a redukált forma transzportjáról.^{31,35}

Mindkét vegyület transzportja hőmérséklet- és időfüggőnek bizonyult, továbbá telítési kinetikával rendelkezik és gátolható, ami a transzportfolyamat fehérje mediált voltát valószínűsíti. Leghatásosabb gátlószernek a glukóz és a GLUT inhibitor genistein bizonyult, ami alapján feltételezhető, hogy a transzporter rokona a kloroplasztban lévő glukóz transzlokátornak, eseleget tagja az emlős glukóz és dehidroaszorbát transzporter GLUT családnak.

A két vegyület transzportja látszólag független a mitokondriális légzéstől. A transzport méréseket BY-2 sejtek mitokondriumból nyert mitoplasztokon is elvégezve, az aszorbát és dehidroaszorbát transzportja a mitokondriálishoz hasonlóan bizonyult, így igen valószínű, hogy a transzporter a belső membránban helyezkedik el.

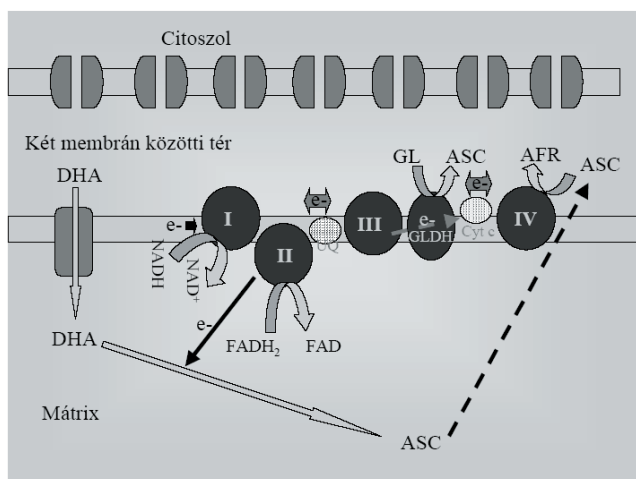
A mitokondriális aszorbinsav transzport folyamatának leírásával sikerült a cikluson található rést betölteni.

3.4. A mitokondriális respirációs elektrontranszfer lánc szerepe a dehidroaszorbát redukcióban

A ciklus bezárását követően felmerült, hogy a Foyer-Halliwell-Asada ciklus nem az egyetlen olyan folyamat, amely során a DHA redukálódhat a növényi mitokondriumban. Az alternatív elektronforrás maga a mitokondriális respirációs elektrontranszfer lánc lehet. A jelenség nem lenne példa nélküli, hiszen korábban állati mitokondriumok esetében felmerült már ennek lehetősége.

A hipotézis bizonyítása során, az izolált dohány mitokondriumokhoz adott légzési szubsztrát szukcinát segítségével egyértelműen fokozni tudtuk a DHA aszorbáttá történő redukcióját.³⁶ Ezzel ellentétben a komplex I szubsztrát malát, valamint a komplex I inhibitor rotenon nem befolyásolta a dehidroaszorbáttól történő aszorbát képződést. Az előző esethez hasonlóan a komplex III inhibitor antimycin A, az alternatív oxidáz inhibitor szalicilhidroxamin sav és a szétkapcsolószert 2,4-dinitrofenol sem gyakorolt hatást a mitokondriális aszorbát keletkezésére. Az előző gátlószerekkel ellentétben a szukcinát dehidrogenáz kompetitív gátlószere a malonát gyakorlatilag teljesen felfüggesztette a szukcinát függő DHA redukciót a mitokondriumban. A komplex IV inhibitor KCN jelentős mértékben fokozta az aszorbinsav felhalmozódását a mitokondriumban. A dehidroaszorbát, alamicinnel permeabilizált mitokondriumokban nem befolyásolta a külsőlegesen hozzáadott NADH szintjét, amely további bizonyítékkal szolgált, hogy az I-es komplex, nem vesz részt a redukciós folyamatban.³⁶

A folyamat ESR spektroszkópiai vizsgálata során a mitokondriális szuszpenzióban DHA hozzáadását követően aszorbil gyökjelet lehetett detektálni. A gyökszintet a szukcinát nem befolyásolta, valamint 60 perces inkubációs időn keresztül végig megtartottak bizonyult. Az aszorbil



1. Ábra. Mitokondriális aszorbát/dehidroaszorbát transzport és redukció (A dehidroaszorbát (DHA) a belső membránban található transzporterén keresztül bejut a mitokondriális mátrixba, ahol a II-es komplexről származó elektronok redukálják a komplex mátrix felé eső oldalán. Az akumulálódott redukált aszorbinsav (ASC) egy része jelenleg még tisztázott módon kijut a mitokondriumból, ahol egy hányada aszorbil gyökké (AFR) oxidálódik elektronokat juttatva a IV-es komplexnek. Rövidítések: Cyt c: citokkróm c, GL: galaktono-1,4-lakton GLDH: galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz, UQ: ubinon)

gyök jele cianid hatására teljesen eltűnt. Az aszorbát oxidációját, mint az aszorbát koncentráció csökkenését megvizsgálva megállapítható volt, hogy cianid távollétében a mitokondrium rendkívül gyorsan oxidálta a hozzáadott aszorbátot, ugyanakkor cianid jelenlétében az aszorbát szint megtartottak bizonyult. Ezek arra utalnak, hogy a dehidroaszorbát hozzáadását követően mérhető aszorbil gyök szint nem a dehidroaszorbát redukciója során jön létre, hanem a redukció eredményeképp termelődött aszorbát mitokondriális oxidációjának következménye.³⁶

Kísérleti eredményeink alapján a következő modellt állítottuk fel a DHA mitokondriális redukciójával kapcsolatban: A dehidroaszorbát transzporterén keresztül bejut a mitokondriumba, ahol a II-es komplexről származó elektronok redukálják a komplex mátrix felé eső oldalán. Az akumulálódott redukált aszorbinsav egy része jelenleg még vitatott módon kijut a mitokondriumból, ahol egy hányada oxidálódik elektronokat juttatva a IV-es komplexnek³⁶ (1. ábra).

4. A mitokondrium és az ozmotikus stressz-válasz lehetséges kapcsolata

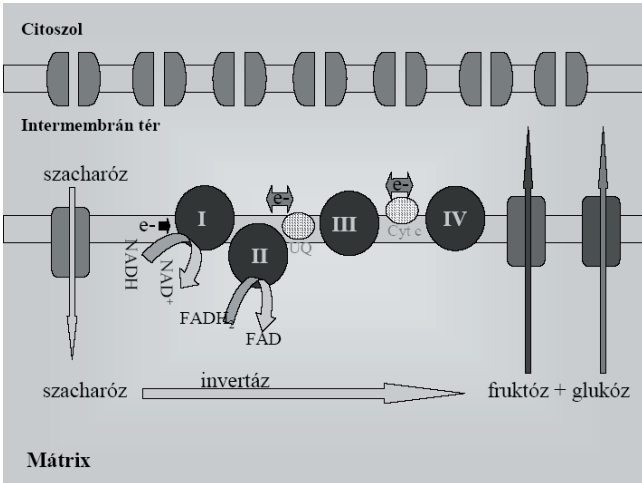
A mitokondriális dehidroaszorbát transzport leírása egy fontos tudományos rést töltött be a DHA redukciós folyamatban, ugyanakkor egy igen fontos kérdést vetett fel. A dehidroaszorbát transzporttal párhuzamosan térképeztük fel a mitokondriális glukózztranszport folyamatát is. A glukózztranszport oka évekig ismeretlen volt, hiszen egyetlen mitokondriumban zajló glukózz fogyasztó, vagy előállító folyamatot sem ismertünk.

A megoldás kulcsa a tavalyi évben leírt mitokondriális szignálszekvenciával rendelkező invertáz lehet³⁷. Növényi mitokondriumok alfrakciókra bontását követően az invertáz aktivitás egyértelműen a mitokondriális mátrix frakcióhoz tudtuk kötni. Az enzimaktivitás pH optimuma, kinetikai paraméterei, valamint inhibitor profilja alapján az újonnan leírásra került enzim a neutrális invertázok családjába sorolható. Az enzim topológiája indokoltá tette szubsztrátjának, valamint termékeinek mitokondriális belső membránon keresztüli transzportjának vizsgálatát is. Ezen transzportmérések során bidirekcionális, telíthető, valamint mitokondriális membránpotenciáltól független szacharóz, glukóz és fruktóz transzportot találtunk a mitokondriális belső membránban. A különböző kinetikai paraméterek, valamint a kereszt-gátlás hiánya arra utaltak, hogy a transzportfolyamatokat három egymástól független transzporter mediálja.³⁸

A folyamatot eredményeink alapján a következőképpen foglaltuk össze: A szacharóz transzporterén keresztül bejut a mitokondriumba. A mitokondriális mátrixban található invertáz hasítja glukózzra és fruktózzra, amely cukrok transzportereiken keresztül kijutnak a mitokondriumból³⁸ (2. ábra).

A mitokondrium prokarióta eredete felveti az esetleges analógiát ma élő prokarióta organizmusokkal. Ennek tekintetében különös figyelmet érdemel a *Zymomonas mobilis* baktériumban leírt szacharóz-glukózz, fruktózz-szorbitol út. Ennek értelmében ozmotikus stressz esetén

a baktérium szacharózt vesz fel, majd invertáz aktivitása révén glukózt és fruktózt állít abból elő, majd ezekből képi az ozmoprotektív hatású szorbitot, amelyet belső membránban található transzportere segítségével (a glukózzal és fruktózzal egyetemben) képes a sejtbe juttatni.³⁹ A bakteriális analógia alapján könnyen elképzelhető, hogy a növényi mitokondriumok invertáz aktivitása, valamint az ahhoz kapcsolódó cukortranszport folyamatok is egy ozmoregulációs aparátus részei lehetnek.



2. Ábra. Mitokondriális invertáz aktivitás és szacharóz, glukóz, fruktóz transzport (A szacharóz passzív, membránpotenciáltól független transzporterén keresztül bejut a mitokondriumba. A mitokondriális mátrixban található invertáz hasítja glukózzá és fruktózzá. A keletkezett monoszacharidok passzív transzporterükön keresztül elhagyják a mitokondriumot.)

5. Régi és új szerepkörök

Természetesen a mitokondrium korábban (energiatermelő) és újonnan felfedezett (stresszadaptációs) szerepkörök kapcsolatban lehetnek egymással. Erre jó példa az aszkorbinsav bioszintézis és a dehidroaszkorbát redukció respirációs elektrontranszferrel való kapcsolata. A közelmúltban egy újabb kapcsolatra sikerült fényt derítenünk. A pentatrikopeptid ismétlődéseket tartalmazó fehérjék családjába tartozó PPR-40 fehérjéről mutattuk ki, hogy kapcsolatot teremt a mitokondriális elektron transzfer a hormonális szabályozás és a stressz adaptációs folyamatok között.⁴⁰ Megfigyeléseink szerint a PPR-40 inzerció mutánsok visszamaradtak növekedésükben, megnövekedett abszcizinsav, só érzékenység és oxidatív stressz jellemezte őket. A PPR-40 fehérje a mitokondriális III-as komplexhez asszociáltan fordul elő. Így nem okozott nagy meglepetést, hogy a mutánsokban a III-as komplex respirációs aktivitása jelentősen visszaesett. A mutáns sejt vonal megnövekedett stressz-érzékenysége a reaktív oxigénvegyületek felszaporodásával, emelkedett lipidperoxidációval, valamint számos stressz-válasz gén megváltozott aktivitójával járt együtt.⁴⁰ Mindezen megfigyelések az oxidatív respiráció és a környezethez történő alkalmazkodás szoros kapcsolatára utalnak.

A mitokondrium még biztosan tartogat meglepetéseket, újabb trükköket számunkra. Könnyen elképzelhető, hogy a jövő szárazsággal, valamint szikes talajokkal szemben

ellenálló növényeihez mitokondriális fehérjék szerepkörének megismerésén, valamint funkcióinak megváltozásán keresztül vezet az út.

Összefoglalás

Heterotróf eukarióta sejtekben döntő részben a mitokondriális légzési elektrontranszport lánc biztosítja a sejtek működéséhez szükséges energiát. Így nem csoda, hogy hosszú időn keresztül a mitokondriumot kizárólag az energiaellátásért felelős sejt szervecskének tartották. Szerepköre a programozott sejthalál mitokondriális útvonalának felfedezésével jelentős mértékben kiszélesedett. Ez a folyamat az eltelt évtized során sem állt meg.

A közelmúltban felfedezett növényi C-vitamin bioszintézisben is fontos feladatot lát el, mivel a bioszintézis utolsó lépését katalizáló enzim a galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz a mitokondriális belső membránban található, szoros kapcsolatban a mitokondriális elektron transzfer láncsal. A mitokondrium aszkorbát anyagcserében betöltött szerepe azonban ennyivel nem merül ki. A C-vitamin bioszintézisében betöltött szerepének feltárását követően kiderült, hogy nem csak a bioszintézisben, hanem a vitamin oxidált formájának, a dehidroaszkorbátnak, aszkorbáttá történő redukálásában is közreműködik. Az utóbbi két esztendő megfigyelései arra utalnak, hogy a mitokondrium nemcsak az oxidatív stressz elleni védelmi láncolat fontos eleme, hanem részt vehet a növényi sejtek ozmotikus-stresszadaptációs folyamataiban is. Az ozmoregulációs folyamatok több fontos elemének jelenlétéről – így cukortranszport folyamatokról, valamint invertázaktivitásról – számoltak be növényi mitokondriumokban.

A mitokondrium régi energiatermelő és újonnan felfedezett stressz-adaptációs funkciói között feltételezhetően szoros kapcsolat áll fenn. Erre utal a közelmúltban felfedezett mitokondriális III-as komplexhez asszociálódó PPR-40 fehérje, melyről kiderült, hogy kapcsolatot teremt a mitokondriális elektron transzfer a hormonális szabályozás és a stressz adaptációs folyamatok között.

Így könnyen elképzelhető, hogy a jövő szárazsággal, valamint szikes talajokkal szemben ellenálló növényeihez mitokondriális fehérjék szerepkörének megismerésén, valamint funkcióinak megváltozásán keresztül vezethet az út.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni Dr. Salgó András, Kapuy Orsolya és Tarcsay Ákos kézirat elkészítéséhez nyújtott segítségét.

Hivatkozások

- Cheng, W.C.; Leach, K.M.; Hardwick, J.M. *Biochim. Biophys. Acta* **2008**, *1783*, 1272-1279.
- Ow, Y.L.; Green, D.R.; Hao, Z.; Mak, T.W. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9*, 532-542.
- Balk, J.; Leaver, C.J. *Plant Cell* **2001**, *13*, 1803-1818.
- Logan, D.C. *J. Exp. Bot.* **2006**, *57*, 1225-1243.

5. Pastore, D.; Trono D., Laus M.N.; Di Fonzo N.; Flagella Z. *J. Exp. Bot.* **2007**, *58*, 195-210.
6. Bartoli, C.G.; Gómez, F.; Martínez, D.E.; Guiamet, J.J. *J. Exp. Bot.* **2004**, *55*, 1663-1669.
7. Sweetlove, L.J.; Heazlewood, J.L.; Herald, V.; Holtzapffel, R.; Day, D.A.; Leaver, C.J.; Millar, A.H. *Plant J.* **2002**, *32*, 891-904.
8. Taylor, N.L.; Heazlewood, J.L.; Day, D.A.; Millar, A.H. *Mol. Cell. Prot.* **2005**, *4*, 1122-1123.
9. Alscher, R.G.; Donahue, J.L.; Cramer, C.L. *Physiol. Plant.* **1997**, *100*, 224-233.
10. Barnes, M.J.; Kodicek E. *Vitam. Horm.* **1972**, *30*, 1-43.
11. Csala, M.; Mile, V.; Benedetti, A.; Mandl, J.; Bánhegyi, G. *Biochem. J.* **2000**, *349*, 413-415.
12. Nardai, G., Braun, L., Csala, M., Mile, V., Csermely, P., Benedetti, A., Mandl, J., Bánhegyi, G. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 8825-8828.
13. Szarka, A.; Stadler, K.; Jenei, V.; Margittai, É.; Csala, M.; Jakus, J.; Mandl, J.; Bánhegyi, G. *J. Bioenerg. Biomembr.* **2002**, *34*, 317-323.
14. Margittai, E.; Bánhegyi, G.; Kiss, A.; Nagy, G.; Mandl, J.; Schaff, Z.; Csala, M. *J. Nutr.* **2005**, *135*, 2530-2534.
15. Bánhegyi, G.; Braun, L.; Csala, M.; Puskás, F.; Mandl, J. *Free. Radic. Biol. Med.* **1997**, *23*, 793-803.
16. Braun, L.; Garzó T.; Mandl, J.; Bánhegyi, G. *FEBS Lett.* **1994**, *352*, 4-6.
17. Braun, L.; Puskás, F.; Csala, M.; Mészáros, G.; Mandl, J.; Bánhegyi, G. *Free. Radic. Biol. Med.* **1997**, *23*, 804-808.
18. Wheeler, G.L.; Jones, M.A.; Smirnoff N. *Nature.* **1998**, *393*, 365-369.
19. Lukowitz, W.; Nickle, T.C.; Meinke, D.W.; Last, R.L.; Conklin P.L.; Somerville C.R. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, *98*, 2262-2267.
20. Conklin, P.L.; Saracco, S.A.; Norris, S.R.; Last, R.L. *Genetics.* **2000**, *154*, 847-856.
21. Smirnoff, N.; Wheeler, G.L. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2000**, *35*, 291-314.
22. Bartoli, C.G.; Pastori, G.M.; Foyer, C.H. *Plant Physiol.* **2000**, *123*, 335-344.
23. Heazlewood, J.L.; Howell, K.A.; Millar, A.H. *Biochim. Biophys. Acta.* **2003**, *1604*, 159-169.
24. Pineau, B.; Layoune, O.; Danon, A.; De Paepe, R. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 32500-32505.
25. Wells, W.W.; Xu, D.P. *J. Bioenerg. Biomembr.* **1994**, *26*, 369-377.
26. Foyer, C.H.; Halliwell, B. *Planta* **1976**, *133*, 21-25.
27. Noctor, G.; Foyer, C.H. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* **1998**, *49*, 249-279.
28. Chew, O.; Whelan, J.; Millar, A.H. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 46869-46877.
29. Jimenez, A.; Hernandez, J.A.; Del Rio, L.A.; Sevilla, F. *Plant. Physiol.* **1997**, *114*, 275-284.
30. Szarka, A.; Horemans, N.; Bánhegyi, G.; Asard, H. *Arch. Biochem. Biophys.* **2004**, *428*, 73-80.
31. Foyer, C.H.; Lelandais, M. *J. Plant. Physiol.* **1996**, *104*, 391-398.
32. Rumsey, S.C.; Kwon, O.; Xu, G.W.; Burant, C.F.; Simpson, I.; Levine, M. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 18982-18989.
33. Horemans, N.; Asard, H.; Caubergs, R.J. *Plant Physiol.* **1997**, *114*, 1247-1253.
34. Horemans, N.; Szarka, A.; De Bock, M.; Raeymaekers, T.; Potters, G.; Levine, M.; Bánhegyi, G.; Guisez, Y. *FEBS Lett.* **2008**, *582*, 2714-2718.
35. Bánhegyi, G.; Marcolongo, P.; Puskás, F.; Fulceri, R.; Mandl, J.; Benedetti, A. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 2758-2762.
36. Szarka, A.; Horemans, N.; Kovács, Z.; Gróf, P.; Mayer, M.; Bánhegyi, G. *Physiol. Plant.* **2007**, *129*, 225-232.
37. Murayama, S.; Handa, H. *Planta.* **2007**, *225*, 1193-1203.
38. Szarka, A.; Horemans, N.; Passarella, S.; Tarcsay, Á.; Örsi, F.; Salgó, A.; Bánhegyi, G. *Planta.* **2008**, *228*, 765-775.
39. Loos, H.; Krämer, R.; Sahm, H.; Sprenger, G.A. *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 7688-7693.
40. Zsigmond, L.; Rigó, G.; Szarka, A.; Székely, Gy.; Ötvös, K.; Darula, Zs.; Medzihradsky, K.F.; Koncz, Cs.; Koncz, Zs.; Szabados, L. *Plant Physiol.* **2008**, *146*, 1721-1737.

The novel cue of mitochondria

Mitochondria were thought to be simple energy providing cell organelles for such a long time. Indeed the main elements of energy metabolism can be found in the mitochondria. This energy centered view of mitochondria has been changed by the observation of many new roles of mitochondria. In this review we would like to give a short overview of these recently discovered functions of plant mitochondria. Special attention would be paid to the role of mitochondria in oxidative and osmotic stress adaptation.

The mitochondrion has a central role in ascorbate metabolism; especially in plants. Since the enzyme catalyzing the ultimate step of ascorbate biosynthesis; the L-galactono-1;4-lactone dehydrogenase (GLDH) is an integral protein of the inner mitochondrial membrane; in close functional relation with the mitochondrial electron transfer chain (Fig. 1.)

Plant mitochondria are responsible not only for the synthesis of ascorbate; but also for the regeneration of ascorbate from its oxidized forms. The recycling is extremely important; since the fully oxidized dehydroascorbic acid (DHA) has a short half-life and would be lost unless it is reduced back.

DHA is taken up plant mitochondria; which suggests that the organelle might be responsible for the regeneration of DHA produced locally; and also for ascorbate-recycling for the whole cell. The facilitated diffusion of DHA from the intermembrane space to the matrix has been recently shown in isolated mitochondria of tobacco

Bright-Yellow 2 (BY 2) cell cultures. In strong contrast to other DHA transport systems that have been described; the mitochondrial DHA uptake is inhibited by glucose and glucose transport inhibitors indicating the possible involvement of glucose transporters. Novel observations proved that mitochondria isolated from tobacco cells are capable of reducing the transported DHA. Ascorbate generation could be stimulated by the respiratory substrate succinate. The complex I substrate malate and the complex I inhibitor rotenone had no effect on the ascorbate generation from dehydroascorbate. Similarly; the complex III inhibitor antimycin A; the alternative oxidase inhibitor salicylhydroxamic acid and the uncoupling agent 2;4-dinitrophenol were ineffective on mitochondrial ascorbate generation both in the absence and in the presence of succinate. However; the competitive succinate dehydrogenase inhibitor malonate almost completely abolished the succinate-dependent increase in ascorbate production. These results gave evidence that the mitochondrial respiratory electron chain of plant cells plays an important role not only in the synthesis of ascorbate; but also in the regeneration of ascorbate from its oxidized form; DHA.

Based on these results; a hypothesis was created on the role of mitochondrial electron transfer chain in dehydroascorbate reduction: DHA is taken up by mitochondria with the mediation of a glucose transporter. DHA is reduced to ascorbate at complex II with exposure to the inner surface of the inner mitochondrial membrane. A portion of ascorbate accumulated in the matrix can leave the mitochondria by a presently unidentified mechanism.

Extramitochondrial ascorbate can be oxidized by supplying electrons to complex IV (Fig. 1.).

The role of mitochondria in osmolyte biosynthesis was also emerged recently. Since a neutral invertase with mitochondrial targeting sequence was described in plant cells. The invertase activity was localized in the mitochondrial matrix. The pH optimum; the kinetic parameters and the inhibitor profile of the invertase activity indicated that it belongs to the neutral invertases. In accordance with this topology; transport activities responsible for the mediation of influx/efflux of substrate/products were studied in the inner mitochondrial membrane. The transport of sucrose; glucose and fructose was shown to be bidirectional; saturable and independent of the mitochondrial respiration and membrane potential. The different kinetic parameters and inhibitors as well as the absence of cross-inhibition suggest that sucrose; glucose and fructose transport are mediated by separate transporters in the inner mitochondrial membrane. The mitochondrial invertase system composed by an enzyme activity in the matrix and the corresponding sugar transporters might have a role in both osmoregulation and intermediary metabolism (Fig. 2.)

There can be many crossings between the earlier and the recently discovered cues of mitochondria.

PPR40; the recently described mitochondrial pentatricopeptide (PPR) domain protein can provide a signalling link between mitochondrial electron transport and regulation of stress and hormonal responses in *Arabidopsis thaliana*. Insertion mutations inactivating PPR40 result in semi-dwarf growth habit and enhanced sensitivity to salt; ABA and oxidative stress. The PPR40 protein is localized in the mitochondria and found in association with Complex III of the electron transport system. In the *ppr40-1* mutant the electron transport through Complex III is strongly reduced; while Complex IV is functional; indicating that PPR40 is important for the ubiquinol-cytochrome c oxidoreductase activity of Complex III. Enhanced stress sensitivity of the *ppr40-1* mutant is accompanied by accumulation of reactive oxygen species; enhanced lipid peroxidation; higher SOD activity and altered activation of several stress responsive genes. These results suggest a close link between regulation of oxidative respiration and environmental adaptation in *Arabidopsis*.