

Cím: A mitokondriumok redox állapotának hatása az Arabidopsis stressz tűréseire

Célok

A növényi mitokondriumokhoz szorosan kapcsolódik számos olyan anyagcsere útvonal, amelyek jelentősek a környezeti változásokhoz való alkalmazkodásában. A növényi mitokondriális elektrontranszport részt vesz a reaktív oxigén formák (ROS) termelésében különböző stressz körülmények között. Az elektronszállítási láncban az I és a III komplex a fő helye a ROS képződésének. Pályázatomban az *Arabidopsis thaliana* mitokondriális funkcióiban, elsősorban a mitokondrium redox állapotának változásában bekövetkező eltéréseket és a környezeti stresszválasz szabályozása közötti kapcsolatot tanulmányoztam. A korábbi kutatásaink során azonosított *ppr40-1* stressz érzékeny Arabidopsis mutáns jellemzésekor szoros kapcsolatot találtunk a mitokondriális elektrontranszport és a környezeti stresszel szembeni ellenálló képesség között. A PPR40 fehérje a mitokondriális elektrontranszport III-as komplexéhez kapcsolódik, és hiánya a légzési ráta drasztikus csökkenésével jár. Munkánk során a mitokondriális légzési folyamatok és a H₂O₂ jelátvitel, valamint az oxidatív és ozmotikus stresszel szembeni ellenálló képességet kutattuk. A *ppr40-1* és más stressz, illetve H₂O₂ jelátvitelt befolyásoló mutánsokban (pl. *cat1*, *cat2*, *apx2*, *sos2-1*), valamint a keresztezett dupla mutánsokban, illetve a mitokondriális I és III komplex alkotóit érintő mutációkat hordozó növényekben vizsgáltuk a mitokondriumban keletkező ROS, valamint az antioxidáns enzimek (pl. aszkorbát peroxidáz, kataláz) és az oxidatív stresszválaszban szerepet játszó egyéb faktorok működésének kölcsönhatását. Proteomikai és sejtleletani módszerekkel jellemezzük a *ppr40-1* mutánsban, illetve dupla mutánsokban a légzési komplexek összetételének és működésének megváltozását. Újgenerációs szekvenálást (RNA-seq) felhasználva tanulmányozzuk a *ppr40-1* mutánsra jellemző génexpressziós változásokat, elsősorban a stresszválaszt érintő szabályozó gének működését. Mitokondriális stabilizáló faktorok módosításával, pl. a PPR40 túltermelésével próbáljuk meg javítani az Arabidopsis sótűrését.

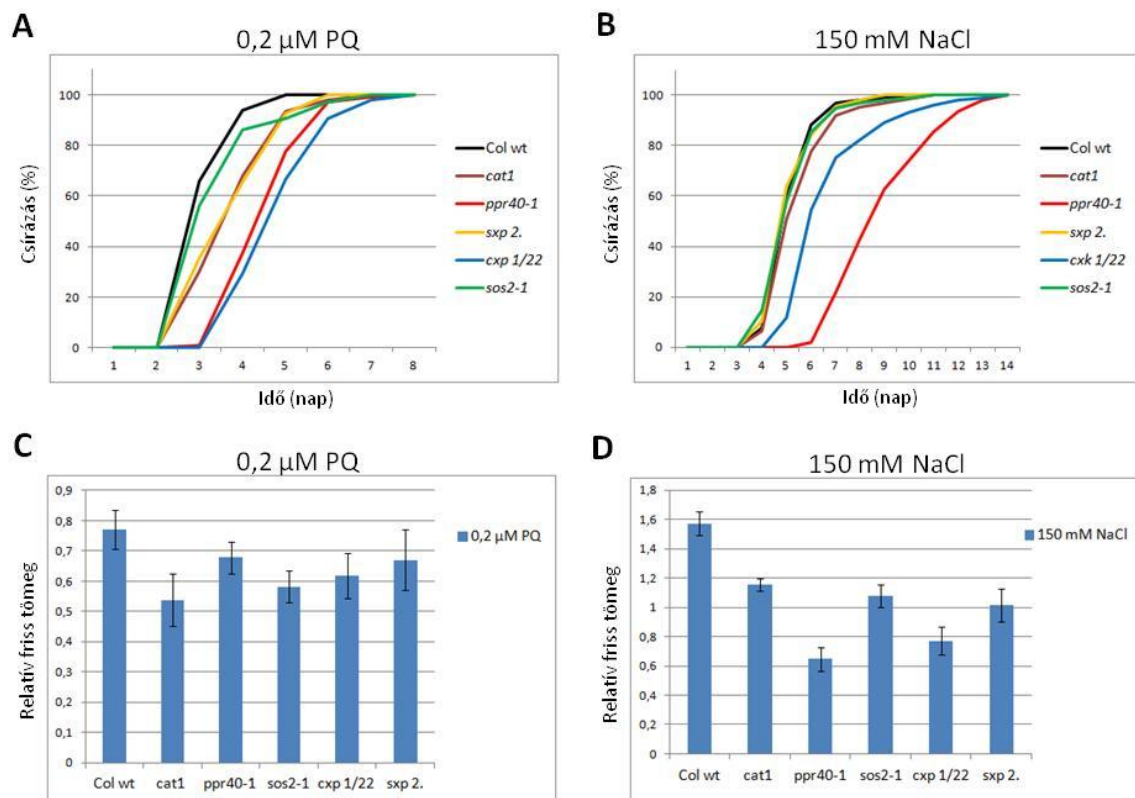
Feladatok

1. Mitokondriális funkciók genetikai analízise és szerepük a stresszválaszban
2. Mitokondriális mutánsok és transzgenikus vonalak fiziológiai vizsgálatai
3. A *ppr40-1* és *ppr40-2* mutáns mitokondriális komplexeinek proteomikai analízise
4. Génexpressziós változások vizsgálata
5. Fokozott stressz toleranciát mutató transzgenikus Arabidopsis növények létrehozása

Eredmények

1. Mitokondriális funkciók genetikai analízise és szerepük a stresszválaszban

A kutatás során a mitokondriális légzés és a stresszválaszok közötti kapcsolatokat alaposabb megismerése céljából kereszteztem a *ppr40-1* mutánst *cat1*, *cat2* és *cat1/2* (ami egy dupla mutáns), *sos2-1* és *apx2* mutánsokkal. A T2 nemzedéken belül mindkét mutációra homozigóta dupla mutánsokat csak a *ppr40-1/cat1* és a *ppr40-1/sos2-1* esetében sikerült azonosítani, a többi esetben a heterozigóta növények vizsgálataiból arra következtettünk, hogy a keresztezett dupla, illetve tripla mutánsok homozigóta növényei nem életképesek, embrió letálisak. A kapott dupla mutánsokkal csírázási és növekedési vizsgálatokat végeztünk, melyekben változó mértékű stressz érzékenységet mutattak a vad típusú *Arabidopsis* csíranövényekkel szemben (1.1. ábra).



1.1. ábra A keresztezett mutánsok stressz érzékenységének vizsgálata

Col wt: vad típus; *sxp2*: *ppr40-1/sos2-1* homozigóta mutáns; *cxp 1/22*: *ppr40-1/cat1* homozigóta mutáns

A és **B**: Csírázási teszt 0,2 μM paraquattal (A) vagy 150 mM NaCl-al (B) kiegészített 1/2 MS táptalajon

C és **D**: 12 napos növények relatív (kontrollhoz - 1/2 MS - viszonyított) friss tömege 0,2 μM paraquattal (C) vagy 150 mM NaCl-al (D) kiegészített kiegészített 1/2 MS táptalajon

Nemzetközi maggyűjteményekből hozzájutottam a mitokondriális I és III komplexet érintő mutánsokhoz, melyek közül homozigóta vonalakat kerestem. A vizsgált vonalak 20%-a homozigótaként embrió letális volt. 10 homozigóta vonallal stressztűrési kísérleteket kezdtem: SALK_145408, SALK_062179C, SALK_129902C, SALK_008750C, SALK_083695C, SALK_115315C, SALK_072274C, SALK_034578C, SALK_133951C, SALK_098106C. Csírázási kísérleteket folytattam különböző koncentrációjú NaCl-ot vagy paraquatot tartalmazó táptalajt használva (1.2. ábra).

Salk azonosító	gén	NaCl 150 mM	NaCl 200 mM	PQ 0,1 μ M	PQ 0,2 μ M
SALK_151958	At5g63510	n	S	n	r
SALK_098106C	At2g20360	n	S	r	n
SALK_034578C	At3g62790	n	S	n	n
SALK_062179C	At1g79010	S	S	S	S
SALK_129902C	At1g79010	n	S	n	s
SALK_008750C	At3g27240	n	S	n	s
SALK_083695C	At3g27240	S	S	r	n
SALK_145408	At3g16480	S	S	n	S
SALK_133951C	At3g02090	r	s	r	n
SALK_115315C	At5g13430	n	S	r	n

n	nincs változás
s	kissé érzékeny (10-15 %)
S	érzékeny (> 15%)
r	kissé toleráns (10-15 %)
R	toleráns (> 15%)

1.2. ábra Csírázási tesztek 150 és 200 mM NaCl-al, illetve 0,1 és 0,2 μ M paraquattal kiegészített táptalajon.

Az eredmények a vad típusú növények csírázásához lettek viszonyítva.

A növekedési vizsgálatokat is végeztünk, ahol 50 mM NaCl és 100 mM szorbitol kezelés mellett mértük a gyökernövekedési képességet és a friss tömegben bekövetkező változásokat (1.3. ábra). A csírázási és növekedési kísérletek eredményei alapján kiválasztottunk két vonalat, melyek toleranciát mutattak szorbitol kezeléssel szemben. A mutánsokat *ndusf8a-1* (SALK_129902C) és *ndusf8a-2*-nek (SALK_062179C) neveztük el, és a két vonallal további fiziológiai vizsgálatokat végeztünk.

Salk azonosító	gén	mitokondriális komplex	gyökér növekedés		friss tömeg	
			A	B	A	B
SALK_072274C	At5g63510	I	n	R	S	R
SALK_098106C	At2g20360	I	s	n	S	S
SALK_034578C	At3g62790	I	r	n	r	s
SALK_062179C	At1g79010	I	S	R	S	R
SALK_129902C	At1g79010	I	s	r	n	r
SALK_008750C	At3g27240	III	s	n	n	n
SALK_083695C	At3g27240	III	S	n	s	R
SALK_145408	At3g16480	III	S	S	n	S
SALK_133951C	At3g02090	III	R	R	r	R
SALK_115315C	At5g13430	III	S	n	n	s

n	nincs változás
s	kissé érzékeny (10-15 %)
S	érzékeny (> 15%)
r	kissé toleráns (10-15 %)
R	toleráns (> 15%)

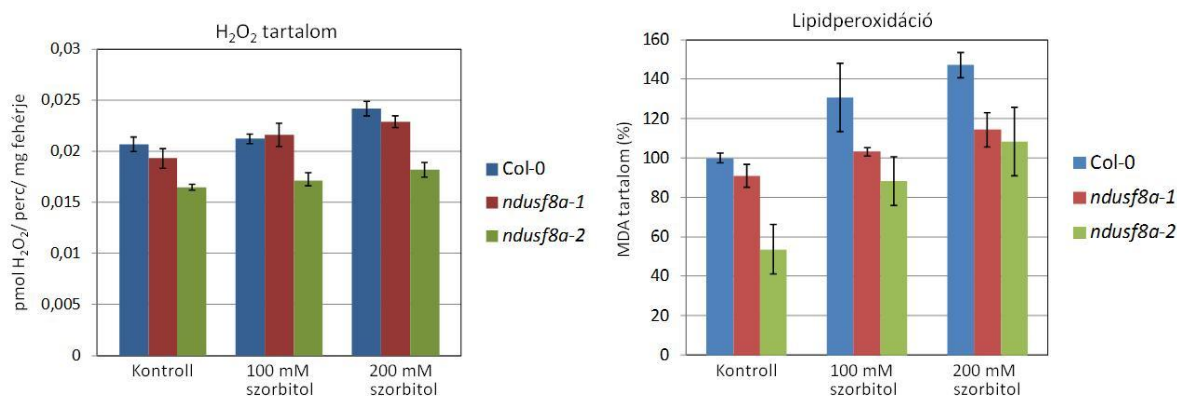
1.3. ábra Növekedési vizsgálatok 50 mM NaCl-al és 100 mM szorbitollal kiegészített táptalajon

A: 50 mM NaCl, B: 100 mM szorbitol

Az eredmények a vad típusú növények gyökernövekedéséhez és friss tömegéhez lettek viszonyítva.

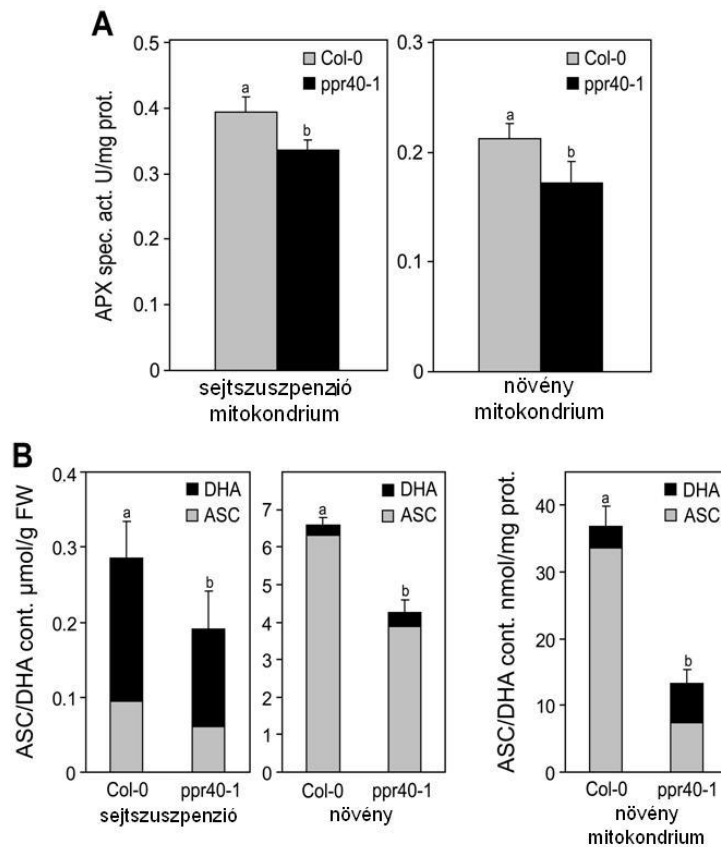
2. Mitokondriális mutánsok és transzgenikus vonalak fiziológiai vizsgálatai

Az *ndusf8a-1* és *ndusf8a-2* mutánsok esetében a mutáció az At1g79010 gént érintette, más-más pozícióban. Az NDUSF8a fehérje a mitokondriális I komplex Q alegységének az alkotója, egyes irodalmi hivatkozásokban TYKY1 néven is szerepel. Megvizsgáltuk a H₂O₂ képződést és a lipidperoxidáció mértékét a két mutánsban 24 óra 100 és 200 mM szorbitol kezelés hatására (2.1. ábra). Az eredmények a növekedési tesztekkel mutattak összefüggést, szorbitol kezelés hatására szignifikánsan kevesebb H₂O₂ keletkezett az *ndusf8a-2* mutánsban, és az oxidatív károsodás mértéke is jelentősen kisebb volt a két mutánsban a vad típushoz képest.



2.1. ábra Reaktív oxigénformák mennyisége a *ndusf8a-1* és *ndusf8a-2* mutánsokban

A *ppr40-1* mutáns és a vad típusú növények mitokondriumainak összehasonlításához először néhány detoxifikációs folyamatot vizsgáltam meg a Halliwell-Asada ciklus enzimeinek aktivitásán keresztül izolált, intakt mitokondriumokban. Az aszkorbát peroxidáz (APX) aktivitás a *ppr40-1* mutáns mitokondriumában alacsonyabb volt a vad típushoz képest (2.2.A ábra).

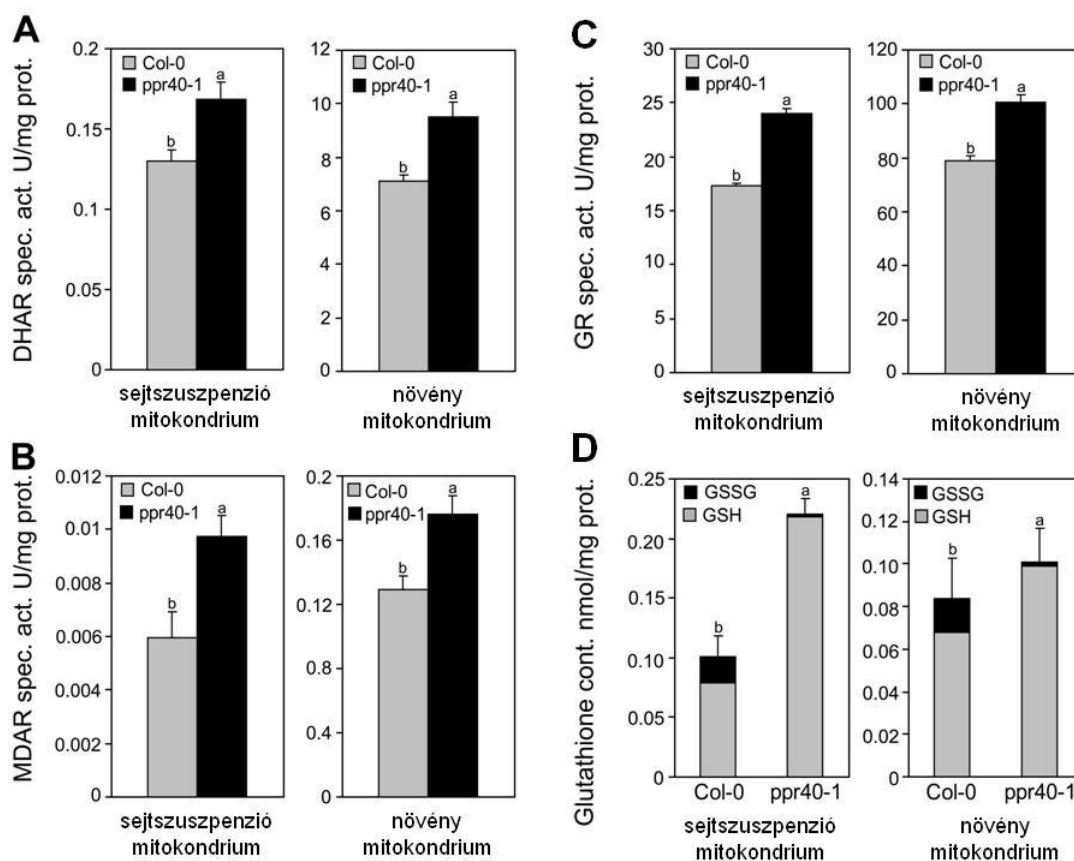


2.2. ábra Aszkorbát peroxidáz (APX) aktivitás és aszkorbát-dehidroaszkorbát (ASC/DHA) tartalom mérése

A : APX aktivitás mérés sejtszuszpenzióból és zöld növényből izolált intakt mitokondriumokon

B : ASC/DHA tartalom mérés sejtszuszpenzióban és zöld növényben, ill. zöld növényből izolált intakt mitokondriumokon

A monodehidroaszkorbát reductáz (MDAR), a dehidroaszkorbát reductáz (DHAR) és a glutation reductáz (GR) aktivitás magasabb szintű volt a *ppr40-1* mutáns mitokondriumában a vad típushoz képest (2.3. ábra A, B, C).



2.3. ábra Dehidroaszorbát reduktáz (DHAR), monodehidroaszorbát reduktáz (MDAR) és glutation reduktáz enzimek (GR) aktivitásának és a glutation (GSH, GSH+GSSG) tartalom mérése

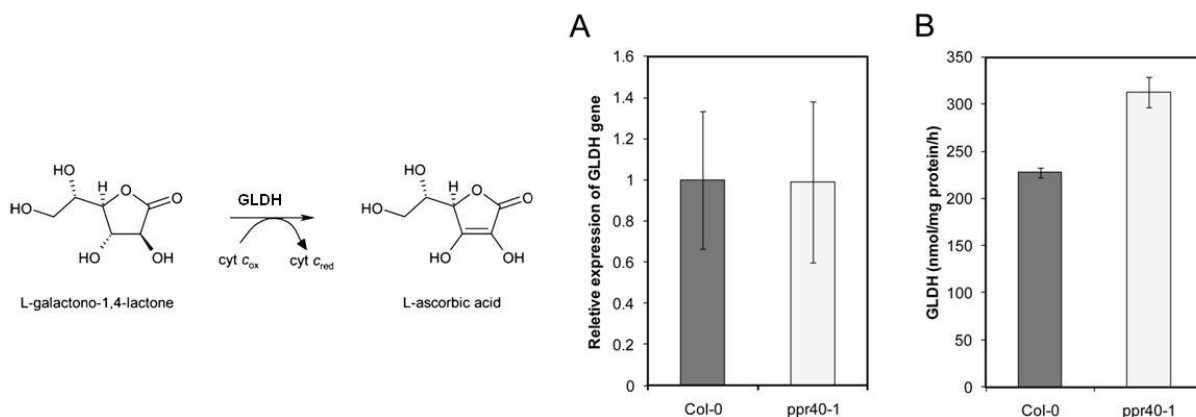
A: DHAR aktivitás

B: MDAR aktivitás

C: glutation reduktáz aktivitás mérés

D: redukált és összes glutation tartalom mérés

A *ppr40-1* mutánsban az aszkorbát tartalom alacsonyabb (2.2. ábra B), míg a GSH tartalom magasabb volt a vad típushoz képest (2.3. ábra D). Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a PPR40 fehérje befolyásolja a mitokondrium redox egyensúlyát szabályozó metabolitok (aszkorbin sav, glutation) koncentrációját. Eredményeinket kiegészítettük az aszkorbát bioszintézis egyik meghatározó enzimének, az L-galaktono-1,4-lakton dehidrogenáznak (GLDH) az aktivitás mérésével és az enzimet kódoló gén expressziójának a vizsgálatával (2.4. ábra). A *ppr40-1* mutáns és vad típusú növények mitokondriumaiban míg a GLDH expressziója nem változott, addig az enzim fokozott aktivitást mutatott a *ppr40-1* esetében a vad típushoz képest.



2.4. ábra Az L-galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz (GLDH) megnövekedett aktivitással működik a *ppr40-1* mitokondriumaiban

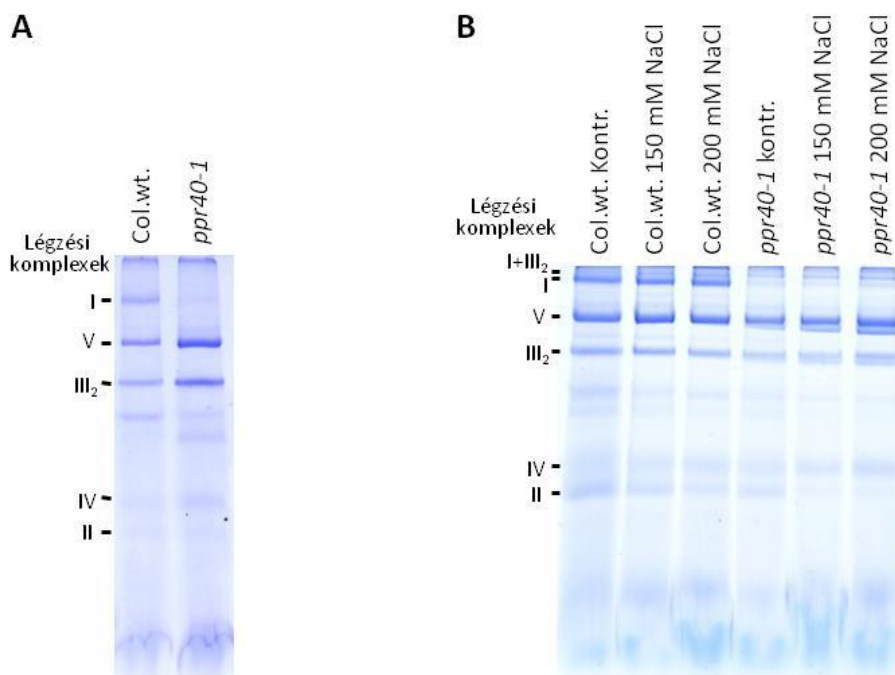
A : a GLDH relatív mRNS szintje vad (Col-0) és *ppr40-1* növényekben

B: GLDH enzim aktivitása vad (Col-0) és *ppr40-1* mitokondriumokban

Az ezen kísérletsorozatból származó eredményeinket részletesen a PLANT PHYSIOL BIOCH 49: (8)809-815 (2011) folyóiratban tettük közzé.

3. A *ppr40-1* és *ppr40-2* mutáns mitokondriális komplexeinek proteomikai analízise

A *ppr40-1* és *ppr40-2* mutáns és a vad típusú növény mitokondriumainak proteomikai analízisekor először a Blue-Nativ 1 dimenziós gélelektroforézis (1D BN-PAGE) módszert



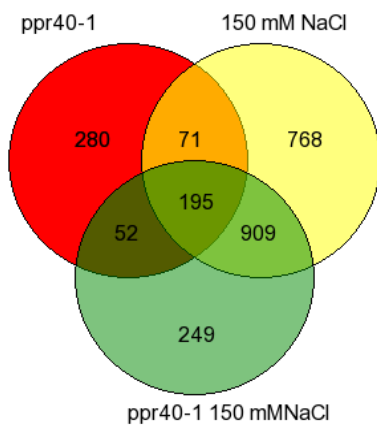
3.1. ábra *ppr40-1* mutáns es vad típusú mitokondrium légségi komplexeinek összehasonlítása BN-PAGE analízissel

alkalmaztam. A *ppr40-2* mutáns esetében semmilyen eltérést nem tapasztaltam az elválasztást követően a vad típushoz képest. A *ppr40-1* esetében a natív elválasztás után az tapasztaltuk, hogy az I komplex mennyisége jelentősen lecsökkent a mutánsban a vad típushoz képest (3.1. A. ábra). 24 óra 150 és 200 mM NaCl kezelés után a mitokondriális komplexek 1D BN-PAGE analízise után a kezeletlen kontrollokhoz képest nem tapasztalunk változást a légzési komplexek mennyiségében (3.1. ábra B).

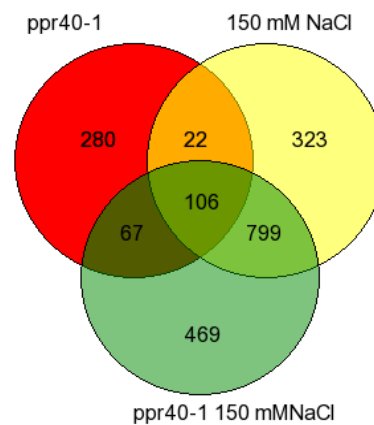
A PPR40 fehérje kölcsönható partnereinek azonosításához immunprecipitációs vizsgálatokat végeztem, amelyhez először a PPR40-HA konstrukciót termelő sejtszuszpenziót használtam fel. Bár a PPR40-HA fehérjét denaturáló körülmények között affinitás kromatográfiával tisztítani lehetett, natív körülmények között a fehérje nem kötődött a HA mátrixhoz (többféle módszert kipróbáltam). Ebből arra következtettünk, hogy a HA epitóp a PPR40-HA fúziós fehérjében natív állapotban fedésbe kerül, így nem alkalmas kölcsönható partner detektálására. A kölcsönható partnerek azonosítása érdekében a kutatás következő periódusában specifikus fehérje-fehérje kereszkötő vegyszereket alkalmaztam izolált, intakt mitokondriumokat felhasználva. A részleges kereszkötés után a mátrix- és membránfehérjéket elválasztottam egymástól, majd SDS-PAGE szeparálás után a PPR40-HA fúziós fehérjét HA ellenanyaggal detektáltam, és a választ adó csíkok fehérje tartalmát tömegspektroszkópás (LC-MS/MS) analízissel azonosítottuk. Több, különböző gén által kódolt lehetséges kölcsönható partnert azonosítottunk (*At4g12130*, *At4g27585*, *At1g51980*, *At3g02090*), melyek igazolására bimolekuláris fluoreszcens komplementáció (BiFC) módszerét kívánjuk alkalmazni.

4. Génexpressziós változások vizsgálata

A PPR40 fehérje esetleges hatásait az RNS metabolizmusra (RNS kötés, splicing változások, expressziós változások) egy viszonylag új módszer alkalmazásával kezdtük vizsgálni. Az ultra-magas áteresztőképességű újgenerációs mélyszekvenálás alkalmazásával (RNA seq), összehasonlítottuk a *ppr40-1* mutáns illetve a vad típusú mitokondriumok génexpressziós mintázatát kontroll és stressz körülmények között. A kapott adatok elemzése után Venn diagramon ábrázoltam azokat az expressziós eredményeket, amelyek legalább 20-20 leolvasási eredményt mutatottak (4.1. ábra). Az eredményeket minden esetben a kezeletlen vad típusú növények eredményeihez hasonlítottam. A ROS jelátviteli folyamatokban szerepet játszó, irodalmi hivatkozások alapján kiválasztott 149 gén expressziós változásait külön elemeztük (függelék, 1. táblázat) piros színnel jelölve a növekedést (indukció), zölddel a gátlást, és kék színnel a legalább 20-20 leolvasási eredményt mutatott adatokat.



indukció



gátlás

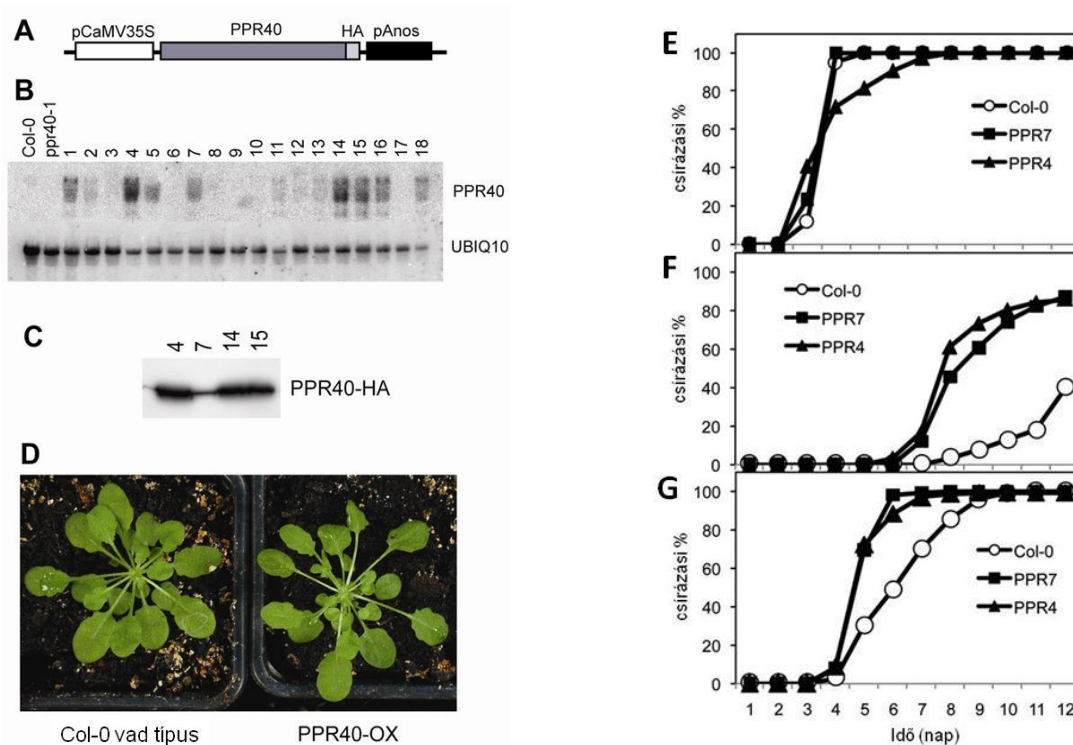
4.1. ábra A *ppr40-1* mutáció és 24 óra 150 mM NaCl hatása a génexpressziós változásokra

Piros kör jelzi azon gének számát, melyek expressziója megváltozott a *ppr40-1* mutánsban a kezeletlen vad típushoz képest, sárga kör jelzi azon gének számát, melyek expressziója megváltozott 150 mM NaCl kezelés hatására a vad típusban a kezeletlen kontrollhoz képest, zöld kör jelzi azon gének számát, melyek expressziója megváltozott 150 mM NaCl kezelés hatására a *ppr40-1* mutánsban a kezeletlen vad típusú kontrollhoz képest.

Emellett RT-PCR segítségével megvizsgáltam néhány mitokondriális genomban kódolt, intront tartalmazó génnek (*nad1*, *nad4*, *nad7*, *cox2*) az esetleges splicing folyamataiban bekövetkezett változásait a *ppr40-1* mutánsban, de eltérést nem tapasztaltam.

5. Fokozott stressz toleranciát mutató transzgenikus *Arabidopsis* növények létrehozása

A túltermelő génkonstrukciók előállítakor a teljes hosszúságú PPR40 cDNS-t pPILY (intron-kapcsolt HA-epitopot tartalmazó) vektorba, majd a pCaMV35S-PPR40-HiA konstrukciót pBIN19 bináris vektorba klónoztuk. A létrehozott plazmid konstrukcióval vad típusú *Arabidopsis* növényeket és sejtszuszpenziót transzformáltunk (5.1. ábra A, B, C). A létrehozott PPR40 fehérjét túltermelő transzgenikus *Arabidopsis* növények (PPRox) esetében az élettani vizsgálatok során fokozott só toleranciát tapasztaltam mind csírázási (5.1. ábra D, E), mind növekedési tesztekben (5.2. ábra) vad típusú növényekhez képest.



5.1. ábra PPR40-HA túltermelő vonalak létrehozása és két független transzgenikus PRR40 túltermelő vonal (PPR4, PPR7) csírázási tesztsjei vad típusú (Col-0) kontroll mellett

A: A pCaMV35S-PPR40-HiA-pAnos génkonstrukció sematikus képe

B: 18 független transzgenikus vonal Northern analízise

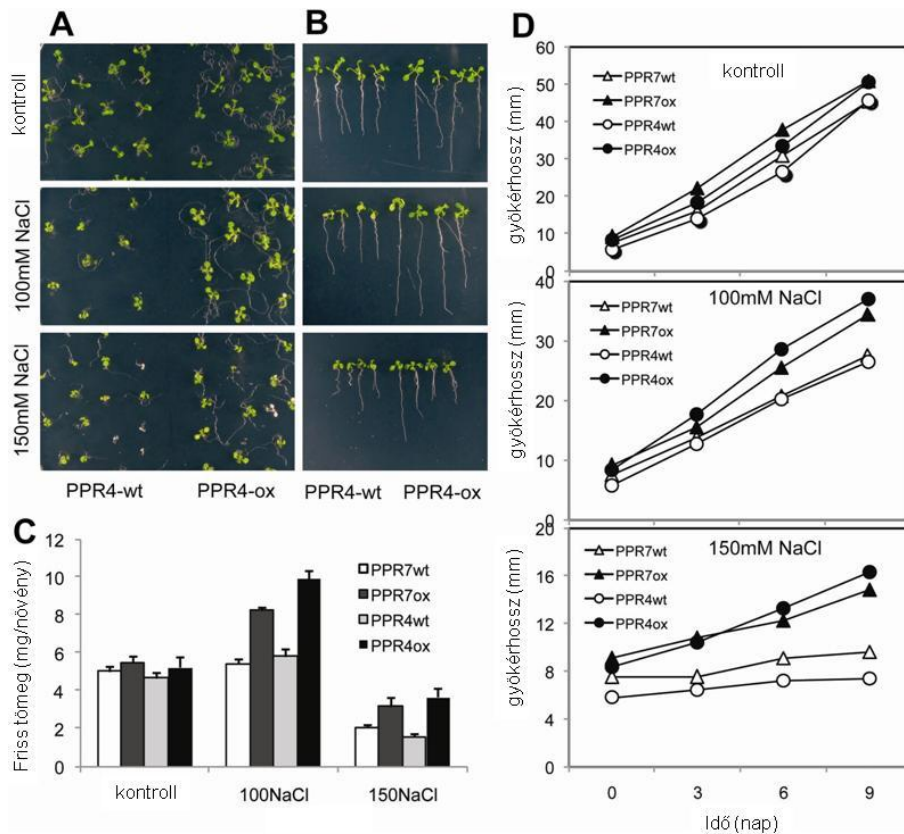
C: A PPR40-HA fehérje kimutatása 4 független túltermelő vonalból Western analízissel

D: 4 hetes Col-0 vad típusú és PPR40ox növények

E: Csírázási teszt, 1/2MS táptalaj

F: Csírázási teszt, 1/2MS táptalaj + 200mM NaCl

G: Csírázási teszt, 1/2MS táptalaj +0.5µM ABA



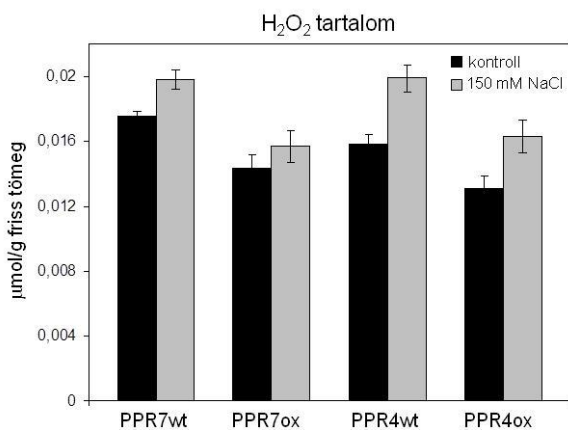
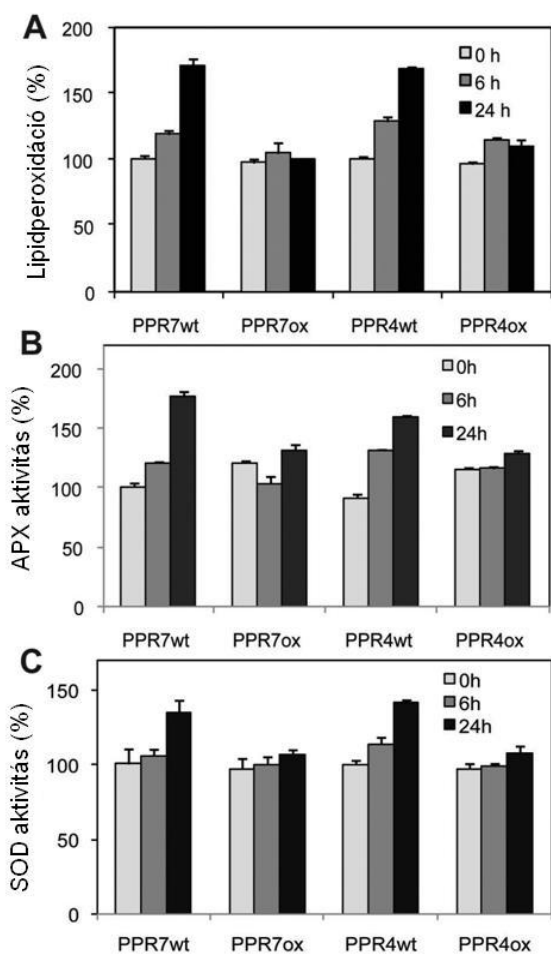
5.2. ábra Növekedési vizsgálatok

A és B: 2 hetes transzgenikus PPR4ox és vad típusú (PPR4wt) növények növekedése kontroll és 100 ill. 150 mM NaCl-al kiegészített táptalajon

C: 2 hetes vad (PPR7wt, PPR4wt) és transzgenikus (PPR7ox, PPR4ox) növények friss tömegének a mérése

D: Gyökernövekedési vizsgálatok

A PPRox vonalak szuperoxid-dizmutáz (SOD) és aszkorbát-peroxidáz (APX) aktivitása stressz hatására nem változott jelentősen, míg a H_2O_2 tartalom és az oxidatív károsodás mértéke kisebb volt bennük a vad típushoz képest 150 mM NaCl kezelés után (5.3. és 5.4. ábra). A PPR40 fehérjét túltermelő sejtszuszpenzió végzett kísérletekből megtudtuk, hogy a mitokondriális elektron transzport I komplex működése fokozott aktivitást mutatott só kezelés hatására (5.5. ábra). Adataink arra utalnak, hogy a nagy mennyiségben jelen levő PPR40 fehérje képes csökkenteni a reaktív oxigén gyökök képződését és az oxidatív károsodás mértékét a mitokondriális elektron transzport stabilizálása révén stressz körülmények között. Ezen eredményeinket részletesen a *PLANT SCI* **182**: 87-93 (2012) folyóiratban publikáltuk.



5.3. ábra Oxidatív károsodások a PPR40 túltermelő és vad típusú növényekben.

2 hetes növények vizsgálata 0, 6 és 24 órás 150 mM NaCl kezelés után PPR4ox és PPR7ox túltermelő, illetve PPR4wt, PPR7wt vad típusú növények felhasználásával. Értékek %-ban megadva, ahol a kezeletlen vad növények eredményei a 100%.

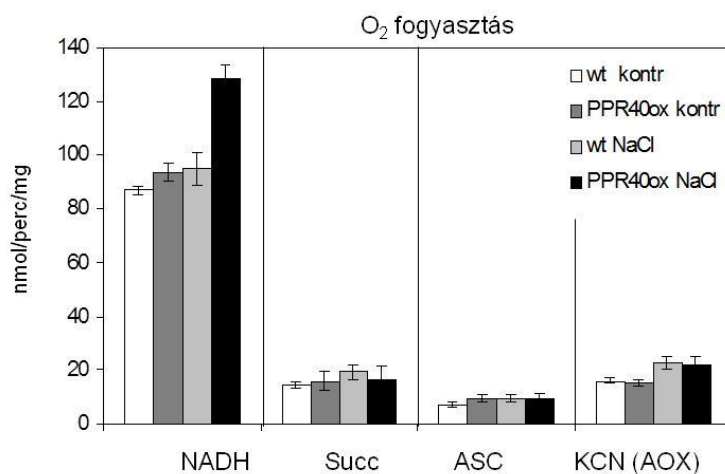
A: Lipidperoxidáció (MDA tartalom) mérés

B: Szuperoxid dizmutáz (SOD) aktivitás mérés

C: Aszkorbát peroxidáz (APX) aktivitás mérés

5.4. ábra H₂O₂ tartalom mérés PPR40-HA túltermelő vonalakon

2 hetes növények vizsgálata 0 és 24 órás 150 mM NaCl kezelés után PPR4ox és PPR7ox túltermelő, illetve PPR4wt, PPR7wt vad típusú növények felhasználásával.



5.5. ábra Mitokondriális légzési komplexek működése PPR40-HA túltermelő sejtekben

O₂ fogyasztás mérése intakt mitokondriumokon kontroll (MS tápoldat) és 8 óra 50 mM NaCl kezelés után

NADH: I. komplex szubsztrát; Succ: szukcinát, II. komplex szubsztrát

ASC: aszkorbát, IV. komplex szubsztrát; KCN (AOX): alternatív oxidáz aktivitás

Az eredményeket bemutató publikációk:

Folyóiratcikk:

Zsigmond L, Tomasskovics B, Deak V, Rigo G, Szabados L, Banhegyi G, Szarka A (2011) Enhanced activity of galactono-1,4-lactone dehydrogenase and ascorbate-glutathione cycle in mitochondria from complex III deficient Arabidopsis, *PLANT PHYSIOL BIOCH* 49: (8)809-815.

Zsigmond L, Szepesi A, Tari I, Rigo G, Kiraly A, Szabados L (2012) Overexpression of the mitochondrial PPR40 gene improves salt tolerance in Arabidopsis, *PLANT SCI* 182: 87-93.

Magyar és nemzetközi konferencia közlemény:

40. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg 2010.05.18-2010.05.21

Aszkorbinsav anyagcsere ppr-40 Arabidopsis thalianában

Szarka András, **Zsigmond Laura**, Szabados László, Bánhegyi Gábor

A Magyar Biokémiai Egyesület 2010. évi Vándorgyűlése Budapest, 2010. augusztus 25-28.

A mitokondriális *PPR40* fehérje hiányának hatása a Halliwell-Asada ciklusra

Zsigmond Laura, Szarka András, Bánhegyi Gábor, Rigó Gábor, Szabados László

10th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants, 5-8 July

2011, Budapest, Hungary

Overexpression of the mitochondrial *PPR40* gene improves salt tolerance in *Arabidopsis*

Laura Zsigmond, Ágnes Szepesi, Irma Tari, Gábor Rigó, Annamária Király, László

Szabados

23rd International Conference on Arabidopsis Research (ICAR) 3-7 July 2012, Vienna,

Austria

The mitochondrial *PPR40* gene can improve salt tolerance in *Arabidopsis*

Laura Zsigmond, Ágnes Szepesi, Irma Tari, Gábor Rigó Hungarian Academy of Sciences,

Annamária Király, László Szabados

Plant Biology Congress Freiburg 2012. Freiburg, Németország, 2012.07.29-2012.08.03.

Mitochondrial electron transport and stress responses in plants: role of *PPR40* protein.

Laura Zsigmond, Ágnes Szepesi, Irma Tari, Gábor Rigó, Ildikó Valkai, Annamária Király,

László Szabados

Függelék, 1. táblázat

Enzyme and Reaction	Gene Name	AGI code	Localization	TAIR	ppr40-1	NaCl	ppr40-1 + NaCl
Superoxide Dismutase (SOD) $O_2^- + O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$	FeSOD (FSD1)	At4g25100.3	chl	FSD1	1,04	-2,58	-2,41
	FeSOD (FSD2)	At5g51100.1	chl	FSD2	-2,04	-2,16	-2,35
	FeSOD (FSD3)	At5g23310.1	chl	FSD3	1,44	1,01	-1,22
	Cu/ZnSOD (CSD1)	At1g08830.1	cyt	CSD1	-1,22	-1,06	-1,10
	Cu/ZnSOD (CSD2)	At2g28190.1	chl	CSD2	-1,44	-1,04	-1,29
	Cu/ZnSOD (CSD3)	At5g18100.1	per	CSD3	1,63	1,41	1,36
	MnSOD (MSD1)	At3g10920.1	mit	MSD1	-1,04	1,22	1,13
	MnSOD-like	At3g56350.1	sec	AT3G56350	na	na	na
Ascorbate Peroxidase (APX) $2 Asc + H_2O_2 \rightarrow 2 MDA + 2H_2O$	APX1	At1g07890.1	cyt	APX1	1,01	1,57	1,23
	APX2	At3g09640.1	cyt	APX2	na	na	na
	APX3	At4g35000.1	per/chl	APX3	1,07	-1,17	-1,34
	APX4	At4g09010.1	chl	APX4	1,12	-2,75	-2,29
	APX5	At4g35970.1	per	APX5	-1,22	-1,04	-2,82
	APX6	At4g32320.1	cyt/chl/mit	APX6	1,12	2,50	1,51
	APX7	At1g33660.1	mit	AT1G33660	na	na	na
	stromal-APX	At4g08390.2	chl/mit	SAPX	1,08	2,15	1,42
thylakoid-APX	At1g77490.1	chl	TAPX	1,09	-2,89	-2,30	
Monodehydroascorbate Reductase (MDAR) $MDA + NAD(P)H + H^+ \rightarrow Asc + NAD(P)^+$	MDAR1	At1g63940.4	chl/mit	MDAR6	1,20	1,08	-1,00
	MDAR2	At3g09940.1	cyt	MDHAR	1,26	-4,76	-3,10
	MDAR3	At3g27820.1	chl/cyt/per	MDAR4	-1,15	-1,00	-1,25
	MDAR4	At3g52880.1	chl/cyt/per	MDAR1	1,26	1,41	1,05
	MDAR5	At5g03630.1	cyt	ATMDAR2	-1,03	2,47	1,36
Dehydroascorbate Reductase (DHAR) $DHA + 2 GSH \rightarrow Asc + GSSG$	DHAR1	At5g16710.1	chl	DHAR3	1,41	-1,84	-2,21
	DHAR2	At5g36270.1	pseudogene	AT5G36270	na	na	na
	DHAR3	At1g75270.1	cyt/chl	DHAR2	1,37	1,49	1,52
	DHAR4	At1g19550.1	cyt/chl	AT1G19550	-1,22	1,54	2,84
	DHAR5	At1g19570.1	cyt/chl	DHAR1	1,06	1,72	1,60
Glutathione Reductase (GR) $GSSG + NAD(P)H \rightarrow 2 GSH + NAD(P)^+$	GR1	At3g24170.1	cyt/pl/per	GR1 (NC_00)	1,37	2,62	2,24
	GR2	At3g54660.1	chl/mit	GR	-1,11	1,43	1,15
Catalase (Cat) $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$	Cat1	At1g20630.1	per/chl/mit/nuc	CAT1	-1,00	1,63	2,29
	Cat2	At4g35090.1	per/chl	CAT2 (NC_00)	-1,32	1,07	-1,19
	Cat3	At1g20620.1	per/chl/mit/mem	CAT3 (NC_00)	-1,05	1,18	1,19
Glutathione Peroxidase (GPX) $H_2O_2 + 2 GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$	GPX1	At2g25080.1	chl	GPX1	-1,22	-1,36	-1,61
	GPX2	At2g31570.1	cyt/chl	GPX2	1,15	1,67	1,41
	GPX3	At2g43350.1	mit	GPX3	1,02	1,64	1,15
	GPX4	At2g48150.1	cyt	GPX4	na	na	na
	GPX5	At3g63080.1	er	GPX5	-1,92	1,33	-1,72
	Phospholipid GPX6	At4g11600.1	chl/mit	GPX6	1,01	1,90	1,24
	GPX7	At4g31870.1	chl	GPX7	-2,59	-1,45	-1,49
	GPX8	At1g63460.1	cyt/chl	GPX8	1,63	2,31	2,25
Ferritin $Fe + P \rightarrow P-Fe$	Ferritin 1	At5g01600.1	chl	FER1	-1,74	4,85	1,74
	Ferritin 2	At3g56090.1	chl/mit	FER3	-1,09	-1,41	-1,21
	Ferritin 3	At2g40300.1	chl/mit	FER4	-1,22	1,99	1,77
	Ferritin 4	At3g11050.1	chl	FER2	na	na	na
Blue copper protein $Cu + P \rightarrow P-Cu$	Blue copper binding protein	At5g20230.1	sec	BCB	3,27	10,32	8,24
	Blue copper protein, putative	At1g72230.1	sec	AT1G72230	1,22	-2,60	-1,25
	Blue copper protein, putative	At3g27200.1	sec	AT3G27200	-2,45	1,93	1,42
	Blue copper-binding protein III	At3g60280.1	sec	UCC3	-1,22	na	na
	Blue copper-binding protein, 15K	At4g12880.1	sec	ENODL19	1,21	-1,72	-2,06
	Copper binding - like protein	At5g26330.1	sec/mit	AT5G26330	-1,22	5,39	-1,41
	Copper-binding protein CUTA	At2g33740.1	chl/mit	CUTA	-1,71	-2,73	-1,64
	Copper-binding protein-like	At4g28365.1	sec/mit	ENODL3	na	na	na
	putative blue copper-binding protein	At2g31050.1	sec/mit	AT2G31050	na	na	na
NADPH oxidase $NADPH + e^- + O_2 \rightarrow NADP^+ + O_2^- + H^+$	NADPH oxidase (RbohA)	At5g07390.1	mem	RBOHA	4,90	-1,30	3,55
	NADPH oxidase (RbohB)	At1g09090.2	mem	RBOHB	1,36	-3,90	-4,23
	NADPH oxidase (RbohC)	At5g51060.1	mem	RHD2	1,47	2,08	-1,08
	NADPH oxidase (RbohD)	At5g47910.1	mem	RBOHD	1,22	-1,32	-1,28
	NADPH oxidase (RbohE)	At1g19230.1	mem	AT1G19230	1,36	1,54	1,10
	NADPH oxidase (RbohF)	At1g64060.1	mem	RBOHF	-1,65	1,20	-1,06
	NADPH oxidase (RbohG)	At4g25090.1	mem	AT4G25090	-1,22	-7,14	-2,21
	NADPH oxidase (RbohH)	At5g60010.1	mem	AT5G60010	na	na	na
	NADPH oxidase (RbohI)	At4g11230.1	mem	AT4G11230	-3,06	na	-3,52
NADPH oxidase-like $NADPH + e^- + O_2 \rightarrow NADP^+ + O_2^- + H^+ (?)$	Acyltransferase oxidase like	At5g23980.1	mem	FRO4	-2,45	1,16	1,06
	oxidase like	At5g49730.1	mem	FRO6	-1,79	-9,59	-10,40
	oxidase like	At5g50160.1	mem	FRO8	1,19	1,06	1,01
	Ferric-chelate reductase	At1g01580.1	mem	FRO2	3,14	-2,11	-2,62
	Ferric-chelate reductase	At5g49740.1	mem	FRO7	-1,25	-5,19	-5,22
	Ferric-chelate reductase	At5g23990.1	mem	FRO5	na	na	na
	Ferric-chelate reductase	At1g01590.1	mem	FRO1 (NC_00)	na	na	na
	NADH-ubiquinone oxidoreductase	At5g67590.1	mem	FRO1 frostbil	1,11	1,28	-1,05
	flavocytochrome	At1g23020.1	mem/mit	FRO3	1,95	-1,24	1,54
Alternative Oxidase (AOX) $2e^- + 2H^+ + O_2 \rightarrow H_2O$	AOX putative	At1g32350.1	mit	AOX1D	4,90	6,16	3,55
	AOX1A	At3g22370.1	mit	AOX1A	-1,05	1,74	1,57

	AOX1B	At3g22360.1	mit	AOX1B	na	na	na
	AOX1C	At3g27620.1	mit	AOX1C	na	na	1,42
	AOX2	At5g64210.1	mit	AOX2	na	na	na
	Immutans	At4g22260.1	chl	IM	-1,14	1,13	1,12
Peroxioredoxin (PrxR)	1-Cys PrxR	At1g48130.1	nuc	PER1	na	na	na
2P-SH + H ₂ O ₂ → P-S-S-P + 2H ₂ O	2-cys PrxR A	At3g11630.1	chl	AT3G11630	-1,05	-2,51	-1,99
	2-cys PrxR B	At5g06290.1	chl	2-Cys Prx B	1,03	-1,79	-1,71
	2-cys PrxR F	At3g06050.1	mit	PRXIF	1,80	-1,16	-1,41
	PrxR Q	At3g26060.1	chl	ATPRX Q	1,08	-2,02	-1,58
	Type 2 PrxR A	At1g65990.1	mem/chl	AT1G65990	na	na	na
	Type 2 PrxR B	At1g65980.1	cyt	TPX1	1,03	1,79	1,57
	Type 2 PrxR C	At1g65970.1	cyt	TPX2 (NC_000000000)	-1,34	-2,44	-1,78
	Type 2 PrxR D	At1g60740.1	cyt	AT1G60740	-2,45	-1,30	3,19
	Type 2 PrxR E	At3g52960.1	chl/mit	AT3G52960	-1,15	-1,39	-1,14
	Type 2 PrxR -related	At3g03405.1	cyt	AT3G03405	na	na	na
Thioredoxins (Trx)	Ferredoxin-thioredoxin reductase	At2g04700.1	chl	AT2G04700	1,02	-1,49	-1,65
P-S-S-P + 2H ⁺ → 2P-SH	Phosphoadenyl-sulfate reductase	At1g62180.1	chl	APR2	-1,02	1,21	1,10
	similar to thioredoxin	At1g43560.1	sec/chl	ty2	-1,00	-1,34	-1,55
	Thioredoxin family	At1g31020.1	mit	TO2	4,90	2,31	2,48
	Thioredoxin family	At1g52990.1	sec/mit	AT1G52990	na	3,08	2,84
	Thioredoxin family	At1g53300.1	mit	TTL1	1,46	1,33	1,51
	Thioredoxin family	At1g76760.1	chl	TY1	2,04	-1,30	1,06
	Thioredoxin family	At2g33270.1	chl	ACHT3	na	na	na
	Thioredoxin family	At2g42580.1	mit/chl	TTL3	1,41	-2,38	-1,41
	Thioredoxin family	At3g06730.1	chl/mit	TRX z	1,13	-2,41	-1,66
	Thioredoxin family	At3g08710.1	cyt	TH9	-1,53	-1,01	1,22
	Thioredoxin family	At3g20560.1	er/mit	PDIL5-3	1,27	-1,67	-1,15
	Thioredoxin family	At3g56420.1	cyt/mit	AT3G56420	na	na	na
	Thioredoxin family	At4g04950.1	cyt	AT4G04950	1,24	1,42	1,37
	Thioredoxin family	At3g56420.1	cyt	AT3G56420	na	na	na
	Thioredoxin family	At4g29670.2	chl/mit	ACHT2	1,31	1,46	1,32
	Thioredoxin family	At4g32580.1	cyt	AT4G32580	na	na	na
	Thioredoxin family	At4g37200.1	chl/mit	HCF164	1,21	1,69	1,06
	Thioredoxin H -related	At2g40790.1	cyt/mit	CXS2	na	na	na
	Thioredoxin H-type 1 (TRX-H-1)	At3g51030.1	cyt	TRX1	-3,67	-3,90	na
	Thioredoxin H-type 2	At5g39950.1	cyt	TRX2	1,35	1,39	1,24
	Thioredoxin H-type 3	At5g42980.1	cyt	TRX3	1,26	1,32	1,16
	Thioredoxin H-type 4 (TRX-H-4)	At1g19730.1	cyt	ATTRX4	1,22	2,31	2,13
	Thioredoxin H-type 5 (TRX-H-5)	At1g45145.1	cyt	TRX5	1,57	-1,30	-1,38
	Thioredoxin M-type 1 (TRX-M1)	At1g03680.1	chl/mit	THM1	1,04	-1,72	-1,89
	Thioredoxin M-type 2	At4g03520.1	chl	ATHM2	-1,19	-1,31	-1,64
	Thioredoxin M-type 3	At2g15570.1	chl	ATHM3	1,33	1,35	-1,41
	Thioredoxin M-type 4	At3g15360.1	chl	TRX-M4	-1,04	-1,14	-1,37
	Thioredoxin reductase 1	At4g35460.1	cyt	NTRB	1,32	1,28	1,30
	Thioredoxin reductase 2	At2g17420.1	cyt/mit	NTRA	1,05	1,18	1,10
	Thioredoxin reductase, putative	At2g41680.1	chl	NTRC	-1,01	-1,37	-1,54
	Thioredoxin x	At1g50320.1	chl/mit	THX	1,34	-1,16	-1,08
Glutaredoxin (GLR)	Glutaredoxin family	At1g03020.1	cyt	AT1G03020	na	na	na
DHA + 2 GSH → Asc + GSSG	Glutaredoxin family	At1g03850.2	chl/mit	AT1G03850	1,26	-1,69	-1,31
	Glutaredoxin family	At1g06830.1	sec/mit	AT1G06830	na	na	na
	Glutaredoxin family	At1g28480.1	cyt/mit	GRX480	na	2,31	2,84
	Glutaredoxin family	At2g20270.1	chl	AT2G20270	1,31	-1,18	1,06
	Glutaredoxin family	At2g30540.1	sec/mit	AT2G30540	na	na	na
	Glutaredoxin family	At2g47870.1	sec	AT2G47870	na	na	na
	Glutaredoxin family	At2g47880.1	sec/mit	AT2G47880	1,63	-1,30	2,13
	Glutaredoxin family	At3g02000.1	cyt	ROXY1	na	na	na
	Glutaredoxin family	At3g62930.1	cyt	AT3G62930	1,63	na	-1,41
	Glutaredoxin family	At3g62950.1	sec/mit	AT3G62950	1,63	-2,60	na
	Glutaredoxin family	At3g62960.1	sec/mit	AT3G62960	na	na	na
	Glutaredoxin family	At4g15660.1	er/sec/mit	AT4G15660	na	na	na
	Glutaredoxin family	At4g15680.1	er/sec/mit	AT4G15680	na	na	na
	Glutaredoxin family	At4g15690.1	er/sec/mit	AT4G15690	1,09	-3,90	1,18
	Glutaredoxin family	At4g15700.1	er/sec/mit	AT4G15700	na	na	na
	Glutaredoxin family	At4g28730.1	chl/mit	AT4G28730	2,31	4,36	3,31
	Glutaredoxin family	At4g33040.1	cyt	AT4G33040	1,09	2,70	2,84
	Glutaredoxin family	At5g11930.1	chl/mit	AT5G11930	4,08	na	na
	Glutaredoxin family	At5g14070.1	cyt	ROXY2	na	na	na
	Glutaredoxin family	At5g18600.1	cyt/mit	AT5G18600	-1,22	-1,80	-1,01
	Glutaredoxin putative	At1g77370.1	sec	AT1G77370	-1,37	1,18	1,46
	Glutaredoxin putative	At5g20500.1	sec	AT5G20500	-1,29	-1,19	-1,38
	Glutaredoxin putative	At5g40370.1	er/sec/chl	AT5G40370	1,47	2,03	1,88
	Glutaredoxin putative	At5g63030.1	cyt	AT5G63030	-1,44	-1,10	-2,11
	Glutaredoxin-related	At3g11920.1	cyt	AT3G11920	na	na	na
nos1/noa1	Nitric oxide synthase 1	At3g47450.1	chl/mit?	NOA1	1,94	1,54	1,29
sos2	Salt overly sensitive 2	At5g35410.1	pmem/vmem	SOS2	-1,02	-2,60	-1,17