

A mitokondrium szerepe a növényi sejt C-vitamin-bioszintézisében és redoxállapotának szabályozásában

The role of mitochondrium in vitamin C biosynthesis and redox state regulation of the plant cell

Szarka András¹, Bánhegyi Gábor²,
Mayer Miklós¹

¹Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék, 1111 Budapest, Műegyetem rakpart 3.

²Semmelweis Egyetem, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézet, 1444 Budapest, Pf. 260

Összefoglalás

Az aszkorbinsav a növényi és állati sejtek legfontosabb vízoldható antioxidánsa, továbbá számos enzim kofaktora. Az ember és néhány más állatfaj a bioszintetikus útvonal utolsó lépését katalizáló enzim mutációja miatt képtelen előállítására, felvételét növényi forrásokból biztosítja. Meglepő módon a növényi aszkorbinsav bioszintetikus útvonalat csak a közelmúltban sikerült felderíteni. A szintézis folyamatában a mitokondrium kulcsszerepet játszik. A bioszintézis utolsó lépését katalizáló enzim (L-galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz) a mitokondrium belső membránjában található, szoros kapcsolatban a mitokondriális elektrontranszferrel. A megfelelő aszkorbinsavszint biztosításában a *de novo* bioszintézis mellett a különböző reakciók során oxidálódott aszkorbinsav visszaredukálása is fontos szerepet kap. Az oxidált forma, a dehidroaszkorbát aszkorbáttá történő visszaforgatását első ízben a kloroplaszt esetében írták le. A visszaredukálásához szükséges elektronok a NADPH-ről glutation közvetítésével kerülnek a dehidroaszkorbátra. A redukciós ciklus enzimeinek jelenlétét a mitokondriumban is kimutatták. A közelmúltban leírásra került mitokondriális dehidroaszkorbát/aszkorbát transzporter és a dehidroaszkorbát redukálásában részt vevő enzimek mitokondriális jelenléte arra utal, hogy a mitokondrium a *de novo* aszkorbát-bioszintézis mellett az aszkorbinsav megfelelő redoxállapotának fenntartásában is szerepet játszik.

Szarka, A.¹, Bánhegyi, G.², Mayer, M.¹

¹Budapest University of Technology and Economics, Department of Biochemistry and Food Technology, H-1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3., Hungary

²Semmelweis University, Department of Medical Chemistry, Molecular Biology and Pathobiochemistry, H-1444 Budapest, POB 260, Hungary

Summary

Ascorbic acid is the most important water-soluble antioxidant in animal and plant cells and also co-factor for several enzymes. Due to mutations in the enzyme catalysing the last step in the synthesis, humans and a few animal species are unable to synthesize it, hence we cover our need from plant sources. Surprisingly, the biosynthetic pathway in plants has only been recently elucidated. Mitochondria plays an essential role, since the enzyme catalyzing the last step is located in the inner mitochondrial membrane, coupled to the mitochondrial electron transfer chain. Sufficient level of ascorbate is not only maintained by *de novo* biosynthesis, but also by the reduction of oxidized ascorbate produced in different reactions. Recycling of the oxidized form of dehydroascorbate into ascorbate was first described in chloroplasts. The electrons required for the reduction of dehydroascorbate come from NADPH *via* glutathione. The enzymes of the reduction cycle were found in mitochondria as well. The recently described mitochondrial ascorbate/dehydroascorbate transporter and the mitochondrial presence of enzymes contributing to reduction of dehydroascorbate suggest that besides *de novo* ascorbate synthesis mitochondria plays a major role in sustaining the redox status of ascorbate.

Bevezetés

Az aszkorbinsavat mellékveséből, narancsból és káposztából elsőként Szent-Györgyi Albert izolálta 1928-ban. A tiszta formájában fehér kristályos anyag több fontos biokémiai reakció résztvevője. Kiemelkedő szereppel bír a sejtek antioxidáns kapacitásának biztosításában mind a növények, mind az állatok esetében. Antioxidáns funkciója mellett számos enzim kofaktora. Az ember néhány más emlőssel egyetemben (pl. tengerimalac, gyümölcssevő denevér) elveszítette az aszkorbinsav bioszintézisének képességét [1], ezért megszerzésére külsőleg, elsősorban növényi forrásokra szorulunk. Ezt a tényt figyelembe véve különösen érdekes, hogy az aszkorbát szintézisére képes állatokban (pl. patkány) folyó reakciók mintegy négy évtizede ismereteseek, addig a növényekben folyó aszkorbát-bioszintézis útvonala a közelmúltig ismeretlen volt.

A C-vitamin bioszintézise és a mitokondrium

Az aszkorbinsav *de novo* bioszintézise gulonolaktón oxidáz aktivitással rendelkező állatfajokban a hexuronsav úton zajlik. A hexuronsav-útvonal során az aszkorbinsav glukózból képződik, amely egyaránt származhat a glikogenolízisből, a glükoneogenezisből, vagy akár a glukóz extracelluláris

felvételéből, így az aszkorbinsav bioszintézise és a szénhidrát-anyagcsere kölcsönösen befolyásolhatják egymást. Az útvonal első szakasza a citoszolban zajlik, az utolsó három enzimes lépés az endoplazmás retikulumhoz kötött [1]. A nemrégiben feltárt növényi aszkorbinsav-bioszintetikus útvonal jelentős különbséget mutat az állati szervezetben megismert bioszintetikus útvonalhoz képest. A bioszintézis ez esetben is D-glükózból indul ki. A Wheeler és Smirnoff által javasolt aszkorbát bioszintetikus út közti termékei: a fruktóz-6-foszfát, mannóz-6-foszfát, mannóz-1-foszfát, GDP-mannóz, GDP-galaktóz, L-galaktóz és az L-galaktono-1,4-lakton [2] (1. ábra). Csökkent aszkorbinsavszinttel rendelkező mutánsokról (vtc1-4) több ízben is beszámoltak [3], ellenben a mai napig nem ismert életképes, teljesen aszkorbinsavhiányos növény. Ennek oka feltételezhetően az, hogy az aszkorbinsav bioszintetikus útvonalának közti termékei más fontos szerepet is betöltenek a növényi sejt életében [4].

A bioszintézis folyamatai az utolsó lépésig a citoszolban folynak, azonban az utolsó lépést katalizáló enzim, az L-galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz a mitokondrium belső membránjában található [5]. Az enzimet elsőként 1954-ben írták le, azóta több forrásból tisztították és a kódoló gének szekvenciáját meghatározták [6,7]. A fehérjelánc első 83–91 ami-



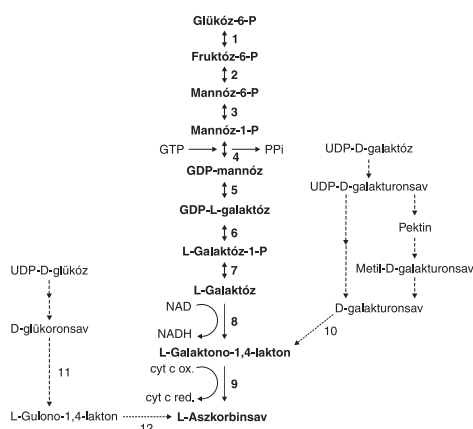
Szarka András 1999-ben szerzett okleveles biomérnöki diplomát a Budapesti Műszaki Egyetem Vegyészmérnöki Karán. 1999 és 2002 között a Semmelweis Egyetem Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola nappali tagozatos hallgatója. Doktori értekezését „Az antioxidánsok szerepe a fehérje diszulfid kötések kialakulásában” címmel 2003-ban védte meg. 2003 óta a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszékén dolgozik, jelenleg egyetemi adjunktusi beosztásban. Érdeklődésének központjában a növényi mitokondrium antioxidáns-anyagcserében

betöltött szerepe áll. A témakör tanulmányozása során hosszabb időt töltött az Antwerpeni Egyetem Biológiai Tanszékén, jelenleg is élő Tét együttműködése van a tanszékkel.

Bánhegyi Gábor 1982-ben végzett általános orvosként a Semmelweis Orvostudományi Egyetemen, azóta az egyetem Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézetében dolgozik. 1990-ben kandidátusi, 1998-ban MTA doktori fokozatot szerzett. 1990 óta egyetemi docens. Kémiát és biokémiát oktat orvostanhallgatóknak, valamint patobiokémiát a posztgraduális képzés keretében. Érdeklődési területe: az endoplazmás retikulum szerepe az anyagcserében, az organelum transzport-rendszerei és redox homeosztázisa.



Mayer Miklós ötödéves biomérnök-hallgató a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Vegyészmérnöki karán. Témavezetőjével, Szarka Andrásal az aszkorbinsav növényi mitokondriális anyagcseréjét kutatja. A 2005-ben megrendezett OTDK versenyen harmadik helyezést ért el a „Dehidroaszkorbinsav és glukóz transzportja a növényi mitokondriumban” című munkájával. Diplomamunkája során a növényi mitokondrium aszkorbinsav-regenerációban betöltött szerepét vizsgálja BY-2 dohánysejtekben.



1. ábra Az aszkorbinsav-bioszintézis útvonala növényi sejtekben. A szintézis fő útvonala kiemelve. A szűrővel jelölt útvonalak feltételezett kisebb jelentőségű alternatív aszkorbát-bioszintetikus útvonalak. (1) Glükóz foszfát izomeráz (2) Foszfomannóz izomeráz (3) Foszfomannóz mutáz (4) GDP-mannóz pirofoszforiláz (5) GDP-mannóz-3,5-epimeráz (6,7) Ismeretlen enzimek (8) L-galaktóz dehidrogenáz (9) L-Galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz (10) D-Galakturnsav reduktáz (11) D-Glikuronsav reduktáz (12) L-Gulono-1,4-lakton oxidáz/dehidrogenáz.

nosava tipikus mitokondriális célszekvencia, a fehérje érése során levágódik [5]. A tisztított enzim egy 56 kDa molekulatömegű monomer. Aktivitását az atebrin, a riboflavin és az akriflavin is gátolja, mely alapján valószínűsíthető, hogy flavin kofaktorral rendelkezik, amit abszorpciós spektruma is alátámaszt. Az enzim *in vitro* kizárólag citokróm c-t használ fel elektronakceptorként [7]. Az L-galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz lokalizációja a mitokondrium belső membránjában, valamint a citokróm c irányába mutatott specifikussága felvetette a légzési elektron-transzport lánchoz való kötődését. Mitokondrium és L-galaktono-1,4-lakton együttes inkubációja során az L-galaktono-1,4-lakton aszkorbinsavvá történő oxidációját, valamint a mitokondriális respirációs hányados megnövekedését tapasztalták [8]. A III-as komplex (citokróm c reduktáz) gátlószere, az antimycin A jelentős mértékben gátolta a mitokondriális respirációt, ugyanakkor serkentette a galaktono-1,4-laktonból történő aszkorbinsav-szintézist. A IV. komplex (citokróm c oxidáz) gátlószere KCN mind a respirációt, mind az aszkorbinsav bioszintézisét gátolta. A galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz tehát az oxidált citokróm c-t használja elektronakceptorként a galaktono-1,4-lakton aszkorbinsavvá történő oxidációja során. A kísérletek egyértelműen arra utalnak, hogy az L-galaktono-1,4-lakton alternatív elektrondonorként elektronokat

juttat az elektrontranszportlánc III-as és IV-es komplexe közé, ezáltal az aszkorbinsav bioszintézisét a mitokondriális légzési elektrontranszfer lánchoz köti [8] (2. ábra). A két folyamat kapcsolatát tovább árnyalja az a megfigyelés, mely szerint az I-es komplex gátlószere rotenon a ciánhoz hasonló mértékben gátolja az aszkorbinsav bioszintézisét [9]. A rotenon ezen gátló hatása nem érvényesül, amennyiben a folyamatban az I-es komplex nem vesz részt (pl. szukcinát légzési szubsztát esetén), igaz az aszkorbinsav-szintézis mértéke ez esetben elmarad az I-es komplexen keresztül belépő szubsztát (pl. malát) esetében tapasztalttól [9]. Mindezek arra utalnak, hogy az I-es komplexen keresztül folyó elektronáram nagymértékben befolyásolja, sőt elengedhetetlen a megfelelő szintű aszkorbinsav-bioszintézishez. Ezen megfigyelések különösen érdekesek annak a ténynek a tükrében, hogy az I-es komplexek kisebb hányada a galaktono-1,4-lakton dehidrogenázzal asszociáltan található a növényi mitokondriumban [10]. Könnyen elképzelhető, hogy az I-es komplexek ezen alcsoportja egy további szerepkörrel is bír, a komplexen átmenő elektronáram alapján regulálja az aszkorbinsav bioszintézisét.

2. ábra (lásd a címlapon) A mitokondriális respiráció és a C-vitamin mitokondriális metabolizmusának hipotetikus kapcsolata. A mátrix (sárga) és az intermembrán tér (zöld) határfelületén, a mitokondriális belső membránon a galaktono-lakton dehidrogenáz (GLDH) elektronokat ad át a III-as és IV-es komplex között a citokróm c (Cyt c) enzimnek, miközben a galaktono-lakton (GL) aszkorbinsavvá (AA) alakul. A mitokondriális respiráció melléktermékeként keletkezett – esetleg más mitokondriumon kívüli folyamatok során képződött és a citoszolból (szürke) az intermembrán térbe bejutott – hidrogén-peroxid eltávolítását a belső membránban található, de intermembrán térorientációjú aszkorbát peroxidáz (AP) enzim végzi. A folyamat során keletkezett aszkorbilgyök spontán aszkorbátra és dehidroaszkorbátra (DHA) diszproporcionálódik. Az ily módon keletkezett DHA a mitokondriális belső membránban található transzporterén keresztül a mátrixba jut. A mátrixban található dehidroaszkorbát reduktáz (DHAR) redukált glutation (GSH) terére visszaredukálja aszkorbinsavvá. Az oxidálódott glutation (GSSG) regenerálását a glutation reduktáz (GR) enzim végzi NAD(P)H terhére.

Az aszkorbinsav regenerációja: a Foyer-Halliwel-Asada ciklus

A megfelelő aszkorbinsavszintet két úton lehet biztosítani: 1. *de novo* szintézis révén, 2. az oxidálódott aszkorbinsav visszaredukálása (reciklálása) révén. Az aszkorbát számos szabad gyökkel és más oxidáló ágenssel képes reagálni, így kiemelkedő sze-

reppel bír a sejtek antioxidáns kapacitásának biztosításában [11]. Emellett számos enzim kofaktora (prolil-4-hidroxiláz, γ -butiril-betain hidroxiláz, dopamin- β -hidroxiláz stb.) [12]. Ezen reakciók során az aszkorbátból aszkorbil gyök, majd dehidroaszkorbát keletkezik. A dehidroaszkorbát a legtöbb biológiai szövetben megtalálható, igaz a viszonylag nagy mennyiségben előforduló aszkorbáthoz képest igen alacsony koncentrációban [11, 12]. A tény, hogy a dehidroaszkorbát mind a növényi, mind az állati sejtekben előfordul, állandóan fennálló oxidációs reakciók létrejöttére utal, másrésztől nagy teljesítményű aszkorbátregeneráló mechanizmus szükségességét veti fel. A regeneráló mechanizmus nélkülözhetetlenségét az aszkorbát esszenciális funkciói (és egyes fajokban az aszkorbátszintézis hiánya) messzemenően indokoltta teszik.

Szent-Györgyi Albert már 1928-ban megfigyelte, hogy a „redukáló szubsztancia” GSH mint redukálószer segítségével visszanyerhető oxidált alakjából. A dehidroaszkorbát glutationnal történő redukciója enzimek távollétében is lejátszódó kémiai reakció [12]. Az utóbbi években nyilvánvalóvá vált, hogy a folyamatot mind növényi, mind állati sejtekben számos enzim katalizálhatja, elektrondonorként glutationt, NADPH-t, liponsavat vagy fehértetiolokat használva [12–14].

Az aszkorbinsav és a glutation között fennálló kapcsolatot és annak funkcióit először kloroplasztban mutatták ki [15]. A kloroplaszt elsősége nem véletlen, hiszen a fotoszintézis során nagy mennyiségű szuperoxid-anion és hidrogén-peroxid keletkezik. Mivel a kloroplaszt nem tartalmaz katalázt, így a hidrogén-peroxid eliminálása elsősorban aszkorbát-peroxidáz segítségével történik [16]. Az aszkorbát-peroxidáz két molekula aszkorbinsav terhére a hidrogén-peroxidot vízzé redukálja, miközben két molekula aszkorbilgyök keletkezik. A szabad gyök vagy gyorsan monodehidroaszkorbát-reduktáz segítségével NAD(P)H, redukált citokróm b vagy ferredoxin terhére visszaredukálódik aszkorbinsavvá, vagy spontán módon aszkorbáttá és dehidroaszkorbáttá diszproporcionálódik. A keletkezett dehidroaszkorbát glutation terhére dehidroaszkorbát reduktáz segítségével aszkorbinsavvá redukálódik. A reakció során keletkezett glutation diszulfid, glutation reduktáz segítségével NADPH felhasználásával redukálódik vissza glutationná [16]. A H_2O_2 eliminálásának ezen útvonalát aszkor-

binsav-glutation vagy felfedezőiről Foyer-Halliwel-Asada ciklusnak nevezik. A reakcióút során sem aszkorbinsav-, sem glutationfelhasználás nem történik, azonban mindkét anyag részt vesz egy négy enzim közreműködésével zajló elektronátvitelben, mely során a NADPH-től származó elektronok terhére bekövetkezik a H_2O_2 vízzé történő redukciója (2. ábra)

Az aszkorbinsav-glutation ciklus a mitokondriumban

A kloroplaszt elektrontranszportlánc mellett a mitokondriális légzési elektrontranszportlánc is jelentős szuperoxid-anion és hidrogén-peroxid forrás. A mitokondrium védelme érdekében enzimekből és kis molekulásúlyú antioxidánsokból álló védelmi rendszert épített ki. Enzimes védelmi hálózatainak legkorábban megismert tagja a szuperoxid diszmutáz. A kataláz jelenlétéről patkány-szívmitokondriumok mátrixában beszámoltak, azonban növényi mitokondriális jelenléte vitatott [17]. Ez a tény és a glutation-reduktáz mitokondriális lokalizációja [18] felvetette a lehetőséget, hogy az aszkorbinsav-glutation ciklus a mitokondriumban is működik, és fontos szerepet kap a respiráció során keletkező hidrogén-peroxid semlegesítésében.

Az aszkorbinsav-glutation ciklus valamennyi enzimének aktivitását ki lehetett mutatni Arabidopsisből, vagy borsó levélből izolált mitokondriumok esetében [13, 19]. Az enzimek latenciájának vizsgálata, valamint a mitokondrium szubfrakcionálása során kiderült, hogy az aszkorbát peroxidáz feltételezhetően a belső membránban elhelyezkedő enzim, amelynek aktív helye a két membrán közötti tér felé néz. A monodehidroaszkorbát reduktáz szintén a mitokondriális belső membránban foglalhat helyet, ellenben aktív helye nagy valószínűséggel a mátrix felé néz. A ciklus további két enzime a dehidroaszkorbát reduktáz és a glutation-reduktáz döntő többsége a mátrixban, kisebb hányada a két membrán közötti térben található [13]. Az enzimek elhelyezkedését és topológiáját proteáz emésztéses vizsgálatok is megerősítették. A monodehidroaszkorbát-reduktáz, a dehidroaszkorbát-reduktáz és a glutation-reduktáz mátrixban történő elhelyezkedése nem meglepő, hiszen működésükhöz elengedhetetlen a trikarbonsav ciklusból, illetve a fotorespirációs glicin dekarboxilációból származó NADH/NADPH.

A ciklus enzimjeinek génjeit azonosították, valamint nyomon követték a fehérjemolekulák kloroplasztba, illetve mitokondriumba történő importját. A kísérletek rendkívül érdekes eredményeket hoztak: az enzimek mindegyike egyaránt importálódhat a kloroplasztba és a mitokondriumba is, tehát kettős irányítottsággal rendelkeznek. Attól függetlenül, hogy a kloroplasztban vagy a mitokondriumban váltottak ki oxidatív stresszt, mindkét esetben egyforma mértékben nőtt meg az enzimek transzkriptumszintje. [13]. Ez azt jelenti, hogy a két organellumban működő aszkorbinsav-glutation ciklus transzkripció szinten egymástól függetlenül nem szabályozható. Amennyiben egymástól független szabályozásra is szükség lehet, az a fehérjeimport szabályozásával vagy poszttranszlációs módosításával oldható meg.

Mitokondriális aszkorbinsav/dehidroaszkorbinsav-transzport és szerepe az aszkorbinsav reciklálásában

A ciklus folyamatos működéséhez a feltöltést biztosítani kell; ahhoz, hogy a mitokondrium ténylegesen részt tudjon venni az aszkorbinsav regenerációjában, mindenképpen léteznie kell egy mitokondriális aszkorbinsav/dehidroaszkorbát transzporternek, hiszen a dehidroaszkorbát redukciójáért felelős enzimek mindegyike a mitokondriális márixban helyezkedik el, míg a dehidroaszkorbát produkciójáért felelős aszkorbát-peroxidáz aktív helye a két membrán közötti tér felé néz [13]. Tehát a dehidroaszkorbátnak valahogyan a márixba, a redukálódott aszkorbátnak pedig onnan ki kell jutnia. A transzporter meglétét egy másik tény is indokolja, emlékezzünk vissza, hogy az aszkorbinsav bioszintézisének utolsó lépését katalizáló enzim, az L-galaktono-1,4-lakton dehidrogenáz a mitokondrium belső membránjában található [5], azonban topológiája ismeretlen. Az enzim aktív helyének ismeretlen orientációja két hipotézist is felvet. I. Az enzim aktív helye a márix felé tekint. Ez esetben egy L-galaktono-1,4-lakton transzporternek kell léteznie a mitokondrium belső membránjában, mely biztosítja az enzim számára a megfelelő szubsztrátellátást, valamint egy aszkorbát transzporternek, amely a megtermelt terméket szállítja el onnan (az aszkorbinsav jelenlétét majd minden sejtorganellumban leírták, tehát mindenképpen el kell jutnia azokba a szintézis helyéről).

II. Az enzim aktív helye a két membrán közti tér felé néz. Az aszkorbát mitokondriális jelenlétét leírták, így a mitokondrium belső membránjában ez esetben is léteznie kell aszkorbáttranszporternek.

Annak ellenére, hogy ennyi érv szólt a transzporter létezésé mellett, a mitokondriális aszkorbinsav-transzportot csak a közelmúltban sikerült leírni és jellemezni. BY-2 dohánysejtekből izolált mitokondriumok esetében megállapítható volt, hogy a mitokondrium mind a redukált forma aszkorbátot, mind az oxidált forma dehidroaszkorbátot felvette [20]. A redukált forma transzportja meglehetősen kis affinitást mutatott ($K_M = 36$ mM), ellentétben a dehidroaszkorbátéval ($K_M = 6$ mM). Itt érdemes megjegyezni, hogy a növényi sejtek citoszóljában az aszkorbát koncentrációja 20 mM körül van [16], valamint a kloroplaszt aszkorbáttranszporterének K_M -értéke is 18–40 mM közé esik [21]. A dehidroaszkorbát preferenciája sem egyedi. Az aszkorbinsav emlős sejtek esetében mind redukált állapotban Na^+ iongradiens terhére, Na -függő módon [22], mind oxidált formában facilitatív glükózztranszporterek révén képes a sejtbe jutni [23]. Növények esetében a plazmamembránon keresztül zajló C-vitamin-transzport preferált transzportformája sem az aszkorbát, hanem az oxidált dehidroaszkorbát [24]. Sejt-szervecskék esetében is beszámoltak mind az oxidált, mind a redukált forma transzportjáról [21, 25].

Mindkét vegyület transzportja hőmérséklet- és időfüggőnek bizonyult, továbbá telítési kinetikával rendelkezik és gátolható, ami a transzportfolyamat fehérjemediált voltát valószínűsíti. Leghatásosabb gátlószernek a glükóz és a GLUT inhibitor genistein bizonyult, ami alapján feltételezhető, hogy a transzporter rokona a kloroplasztban lévő glükóz transzlokátornak, esetleg tagja az emlős glükóz és dehidroaszkorbát transzporter GLUT-családnak. További munka szükséges a transzporter molekuláris azonosításához.

A két vegyület transzportja látszólag független a mitokondriális légzéstől. A transzportméréseket BY-2 sejtek mitokondriumából nyert mitoplasztokon is elvégezve az aszkorbát és dehidroaszkorbát transzportja a mitokondriálishoz hasonlóan bizonyult, így igen valószínű, hogy a transzporter a belső membránban helyezkedik el. A mitokondriális aszkorbinsavtranszport folyamatának megismerésével a ciklus teljessé vált (2. ábra).

Berekesztés

A mitokondrium növényi C-vitamin bioszintézisében betöltött szerepe vitathatatlan. Az aszkorbinsav körforgásban betöltött szerepe már több kérdést vet fel. Jelenleg ismeretlen a mitokondrium aszkorbinsav-regeneráló kapacitása. Nem tisztázott, hogy csak a mitokondriális anyagcsere során keletkezett hidrogén-peroxid eliminálása és az eliminálás során keletkezett dehidroaszkorbát redukciója a feladata, vagy esetleg más sejtorganelumokban keletkezett dehidroaszkorbát regenerálásában is szerepet vállal. A kloroplasztal együtt történő transzkripció szabályozás mindenesetre arra utal, hogy a mitokondrium besegíthet a kloroplaszt antioxidáns védelmébe és a kloroplaszt is viszonyozhatja ezt a gesztus a mitokondrium irányába. Az egygénes szabályozással a növényi sejt egyúttal a két sejtszervecske közötti antioxidáns kommunikációt is biztosíthatja. A növényi mitokondrium aszkorbinsav regenerációban betöltött szerepe nem példa nélküli. Patkányvázizom-mitokondriumok esetében a közelmúltban írtak le egy hasonló aszkorbinsav-regenerációs ciklust [26]. Az állati ciklus során a regenerációs folyamat és a légzési elektrontranszfer kapcsoltsága bizonyítottan látszik. Növényi mitokondriumok esetében jelenleg a légzési elektrontranszferlánc szerepe sem felderített a dehidroaszkorbát redukciójában.

Mind az elsődleges anyagcsere és a mitokondriális aszkorbinsav-reciklálás kapcsolatának, mind a mitokondrium aszkorbinsav-regeneráló kapacitásának megismerése csak további kísérletek útján történhet meg. A vizsgálatok során különös figyelmet kell szentelni annak a ténynek, hogy a mitokondrium a sejt életében más fontos szerepet is betölt, valamint hogy a dehidroaszkorbinsav-regenerálásban más sejtszervecské is szerepet kapnak. Így a folyamatot összességében kell görcső alá venni.

Irodalomjegyzék

- [1] Bánhegyi, G., Braun, L., Csala, M., Puskas, F., Mandl, J. (1997) Ascorbate metabolism and its regulation in animals. *Free Radic. Biol. Med.*, **23**: 793–803.
- [2] Wheeler, G. L., Jones, M. A., Smirnoff, N. (1998) The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature*, **393**: 365–369.
- [3] Lukowitz, W., Nickle, T. C., Meinke, D. W., Last, R. L., Conklin, P. L., Somerville, C. R. (2001) Arabidopsis cyt1 mutants are deficient in a mannose-1-phosphate guanylyltransferase and point to a requirement of N-linked glycosylation for cellulose biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**: 2262–2267.
- [4] Conklin P. L., Saracco, S. A., Norris, S. R., Last, R. L. (2000) Identification of ascorbic acid-deficient Arabidopsis thaliana mutants. *Genetics*, **154**: 847–856.
- [5] Smirnoff, N., Wheeler, G. L. (2000) Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **35**: 291–314.
- [6] Imai, T., Karita, S., Shiratori, G., Hattori, M., Nunome, T., Oba, K., Hirai, M. (1998) L-galactono-gamma-lactone dehydrogenase from sweet potato: purification and cDNA sequence analysis. *Plant Cell Physiol.*, **39**: 1350–1358.
- [7] Ostergaard, J., Persiaum G., Daveym M. W., Bauw, G., van Montagu, M. (1997) Isolation of a cDNA coding for L-galactono-gamma-lactone dehydrogenase, an enzyme involved in the biosynthesis of ascorbic acid in plants. Purification, characterization, cDNA cloning, and expression in yeast. *J. Biol. Chem.*, **272**: 30009–30016.
- [8] Bartoli, C. G., Pastori, G. M., Foyer, C. H. (2000) Ascorbate biosynthesis in mitochondria is linked to the electron transport chain between complexes III and IV. *Plant Physiol.*, **123**: 335–344.
- [9] Millar, A. H., Mittova, V., Kiddle, G., Heazlewood, J. L., Bartoli, C. G., Theodoulou, F. L., Foyer, C. H. (2003) Control of ascorbate synthesis by respiration and its implications for stress responses. *Plant Physiol.*, **133**: 443–447.
- [10] Heazlewood, J. L., Howell, K. A., Millar, A. H. (2003) Mitochondrial complex I from Arabidopsis and rice: orthologs of mammalian and fungal components coupled with plant-specific subunits. *Biochim. Biophys. Acta*, **1604**: 159–169.
- [11] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (1999) Ascorbic acid. In: *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd Ed. (Halliwell, B., Gutteridge, J., Eds.) (Oxford University Press) pp. 200–208.
- [12] Wells, W. W., Xu, D. P. (1994) Dehydroascorbate reduction. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **26**: 369–377.
- [13] Chew, O., Whelan, J., Millar, A. H. (2003) Molecular definition of the ascorbate-glutathione cycle in Arabidopsis mitochondria reveals dual targeting of antioxidant defenses in plants. *J. Biol. Chem.*, **278**: 46869–46877.
- [14] Nardai, G., Braun, L., Csala, M., Mile, V., Csermely, P., Benedetti, A., Mandl, J., Bánhegyi, G. (2001) Protein-disulfide isomerase and protein thiol-dependent dehydroascorbate reduction and ascorbate accumulation in the lumen of the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.*, **276**: 8825–8828.
- [15] Foyer, C. H., Halliwell, B. (1976) Presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: proposed a role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, **133**: 21–25.
- [16] Noctor, G., Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **49**: 249–279.
- [17] Moller, I. M. (2001) Plant mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **52**: 561–591.
- [18] Edwards, E. A., Rawsthorne, S., Mullineux, P. M. (1990) Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.). *Planta*, **180**: 278–284.
- [19] Jimenez, A., Hernandez, J. A., del Rio L. A., Sevilla, F. (1997) Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves. *Plant Physiol.*, **114**: 275–284.
- [20] Szarka, A., Horemans, N., Bánhegyi, G., Asard, H. (2004) Facilitated glucose and dehydroascorbate transport in plant mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.*, **428**: 73–80.
- [21] Foyer, C. H., Lelandais, M. (1996) A comparison of the relative rates of transport of ascorbate and glucose across the thylakoid, chloroplast and plasmalemma membranes of pea mesophyll cells. *J. Plant Physiol.*, **104**: 391–398.
- [22] Tsukaguchi, H., Tokui, T., Mackenzie, B., Berger, U. V., Chen, X. Z., Wang, Y., Brubaker, R. F., Hediger, M. A. (1999) A family of mammalian Na⁺-dependent L-ascorbic acid transporters. *Nature*, **399**: 70–75.
- [23] Rumsey, S. C., Kwon, O., Xu, G. W., Burant, C. F., Simpson, I., Levine, M. (1997) Glucose transporter isoforms GLUT1 and GLUT3 transport dehydroascorbic acid. *J. Biol. Chem.*, **272**: 18982–18989.
- [24] Horemans, N., Asard, H., Caubergs, R. J. (1997) The ascorbate carrier of higher plant plasma membranes preferentially translocates the fully oxidized (dehydroascorbate) molecule. *Plant Physiol.*, **114**: 1247–1253.
- [25] Bánhegyi, G., Marcolongo, P., Puskás, F., Fulceri, R., Mandl, J., Benedetti, A. (1998) Dehydroascorbate and ascorbate transport in rat liver microsomal vesicles. *J. Biol. Chem.*, **273**: 2758–2762.
- [26] Li, X., Cobb, C. E., May, J. M. (2002) Mitochondrial recycling of ascorbic acid from dehydroascorbic acid: dependence on the electron transport chain. *Arch. Biochem. Biophys.*, **403**: 103–110.