



SZÉCHENYI TERV

NÖVÉNYGENETIKA

Az Agrármérnöki MSc szak tananyagfejlesztése
TÁMOP-4.1.2-08/1/A-2009-0010



MAGYARORSZÁG MEGÚJUL



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

A FOSZFOR TÁPLÁLKOZÁS GENETIKAI ALAPJAI

az előadás áttekintése

A foszfor előfordulási formái és helyei a növényben

A foszfor felvételének sajátosságai, nehézségei

A nagy affinitású P_a transzporterek típusai

A foszfát transzportereket kódoló géncsaládok jellemzése

**A nagy affinitású P_a transzporterek expressziójának
szabályozása**

**A P-táplálkozás optimalizálása, az egyensúlyi
állapot (homeosztázis) fenntartása**

A foszfor szerepe a biológiai folyamatokban:

- építőelem: nukleinsavak, foszfolipidek, stb...
- energia szolgáltatás (ATP)
- jelátviteli kaszkádok
- enzimek aktivitásának szabályozása

A foszfát nem redukálódik a növényben

(ellentétben pl. a nitráttal és a szulfáttal)

→ oxidált formában vesz részt a folyamatokban.

A növény **összes foszfor** tartalma

tág határok között változhat, de:

- **aktív pool**: a plazmában és az organellumokban, részt vesz az anyagcsere folyamatokban
koncentrációja szűk intervallumban mozoghat
- **tartalék foszfor**: a vakuólumban
jó P_a ellátás esetén az összes foszfornak akár 85 - 95%-a is lehet

A foszfor felvétele

Az eszenciális növényi tápanyagok közül a foszfor a **legnehezebben felvehető** elem

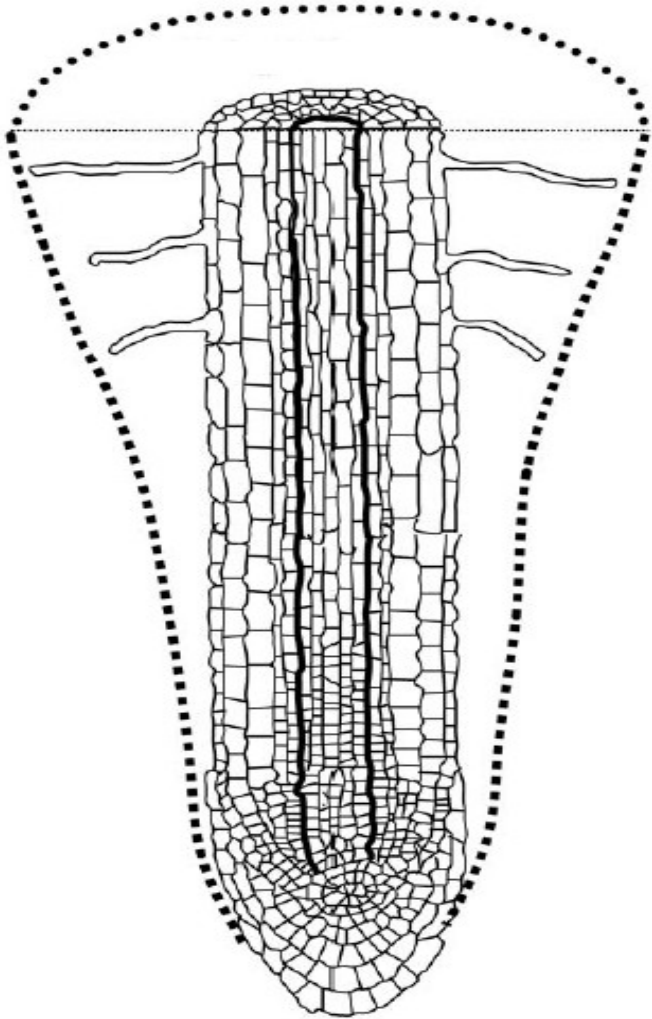
A növénytermesztést leginkább korlátozó tényezők között a nitrogén után a második helyen áll!

A szervesetlen foszfát (anorganikus: P_a) felvételt nehezítő körülmények:

- Ca-ban gazdag talajokon kalciumfoszfáttá alakul
- savas talajokon (sok Fe és Al)
felvehetetlen komplexeket képez
- szerves trágyázás esetén kötött szerves formában
- a műtrágyának is kb. 80 % felvehetetlen:
anorganikus és/vagy organikus megkötés

P_a koncentrációja a talajban $\leq 10 \mu\text{M}$

Foszforhiányos zóna



a P_a felvétele miatt
a növények gyökere körül egy
 P_a -szegény zóna alakul ki,
mely állapot **fennmarad**
(P_a mozgása a talajban nagyon lassú)

a növények a koncentráció gradienssel szemben,
akár három nagyságrendű különbség esetén is
képesek a P_a felvételére

P_a koncentráció a talajban: μM

a növényben: mM

A P_a felvétel mechanizmusai között megtalálhatóak
mind a kis-, mind a **nagy** affinitású transzporterek,
utóbbi a **meghatározó**.

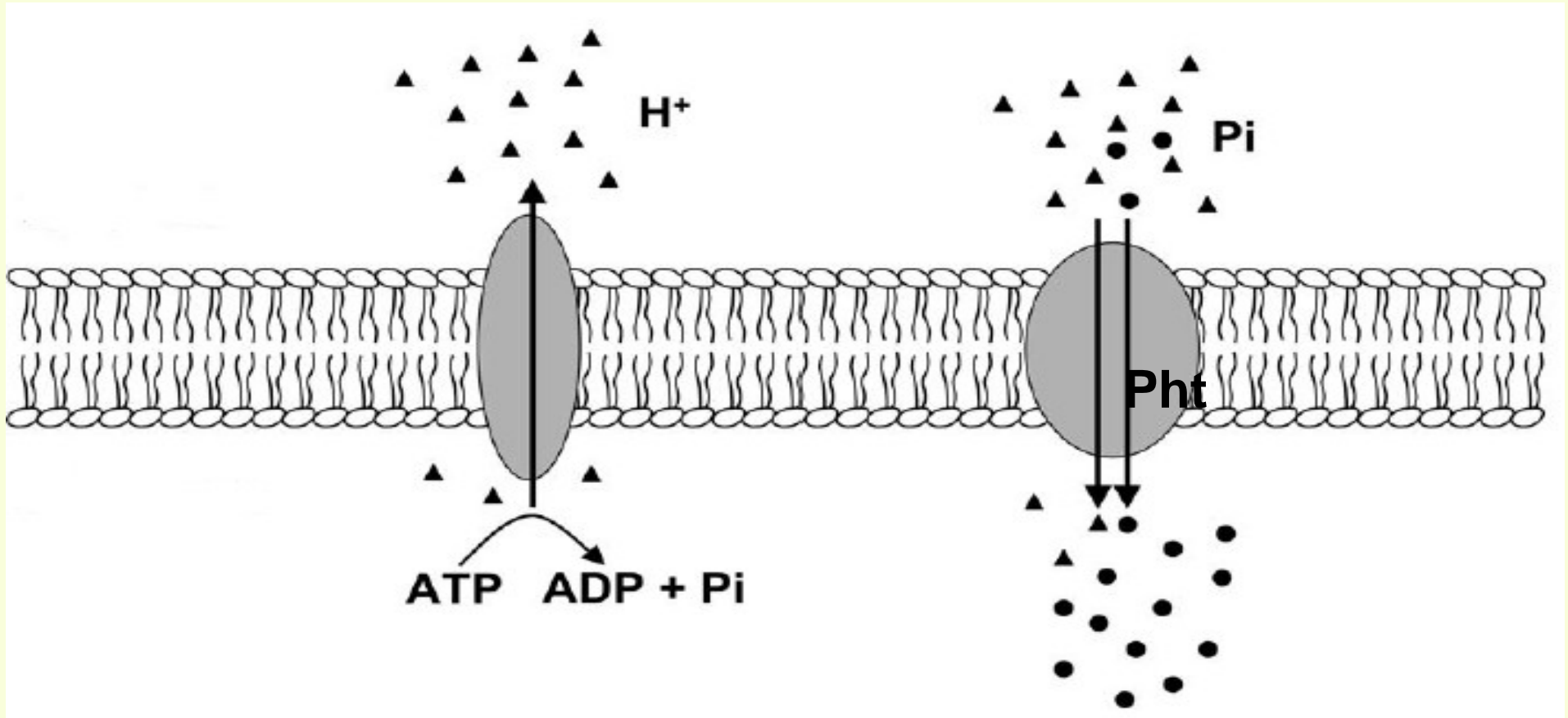
A hajtás P_a -ellátottságának változása szabályozza
a P_a -hiányra aktiválódó válaszreakciókat
beleértve a gyökéren keresztül történő P_a -felvételt is.
(osztott gyökerű növényekkel végzett kísérletek)

P_a hiány idején

megnő a nagy affinitású P_a transzporterek száma,
(de ezek kinetikai tulajdonságai változatlanok maradnak)

a kis affinitású transzporterek expressziója
állandó szintet mutat

Az ortofoszfát $^*(\text{H}_2\text{PO}_4^-)$ felvétele proton **ko-transzporttal**:
(*P_a transzportban a szervesetlen foszfor legjellemzőbb formája)



H^+ (háromszög) **grádiens**t a H^+ -ATP-áz aktivitása eredményezi.

Pht: P_a transzporter protein, P_a : kör.

A nyilak a transzport irányát jelölik.

Foszfát transzporterek

A nagy affinitású foszfát transzporterek családjába **kevés gén** tartozik.

Két fő csoportjuk:

- P_a hiányában indukálódók
- mycorrhiza gomba hatására aktiválódók

gombákkal képzett szimbiózis

A virágos növények többsége **mycorrhizakkal** is javítja a P_a felvételt.

akár 60-szorosára is megnőhet a talajréteget behálózó **gyökér-felvevő-felület**

A hatékony gomba-növény együttműködéshez a különböző P_a transzporterek koordinált szabályozása szükséges.

a növény képes a „**mycorrhizás**” és „**nem-mycorrhizás**” P_a felvétel között váltani az elérhető foszfor-forrás függvényében

A gének funkciójának megismerése:

„knock-out” *Arabidopsis* mutánsokkal

Az egyes transzporterek fiziológiai szerepének megismerését nehezíti az **átfedő expressziós mintázat**,

Az egyes transzporter családokon belül potenciálisan létező **funkcionális redundancia** („túlbiztosítás”)

→ a mutáns gén fenotípusos megjelenését elfedheti.

Erre a jelenségre kétszeres, ill. háromszoros mutánsok létrehozásával és elemzésével lehet fényt deríteni.

Nagy affinitású foszfát transzporterek

≈ 520 aminosavból állnak,

12, membránon áthaladó,
helikális régióval rendelkeznek,

a **6. és a 7. domén között** egy
hosszú hurok helyezkedik el a citoplazmában

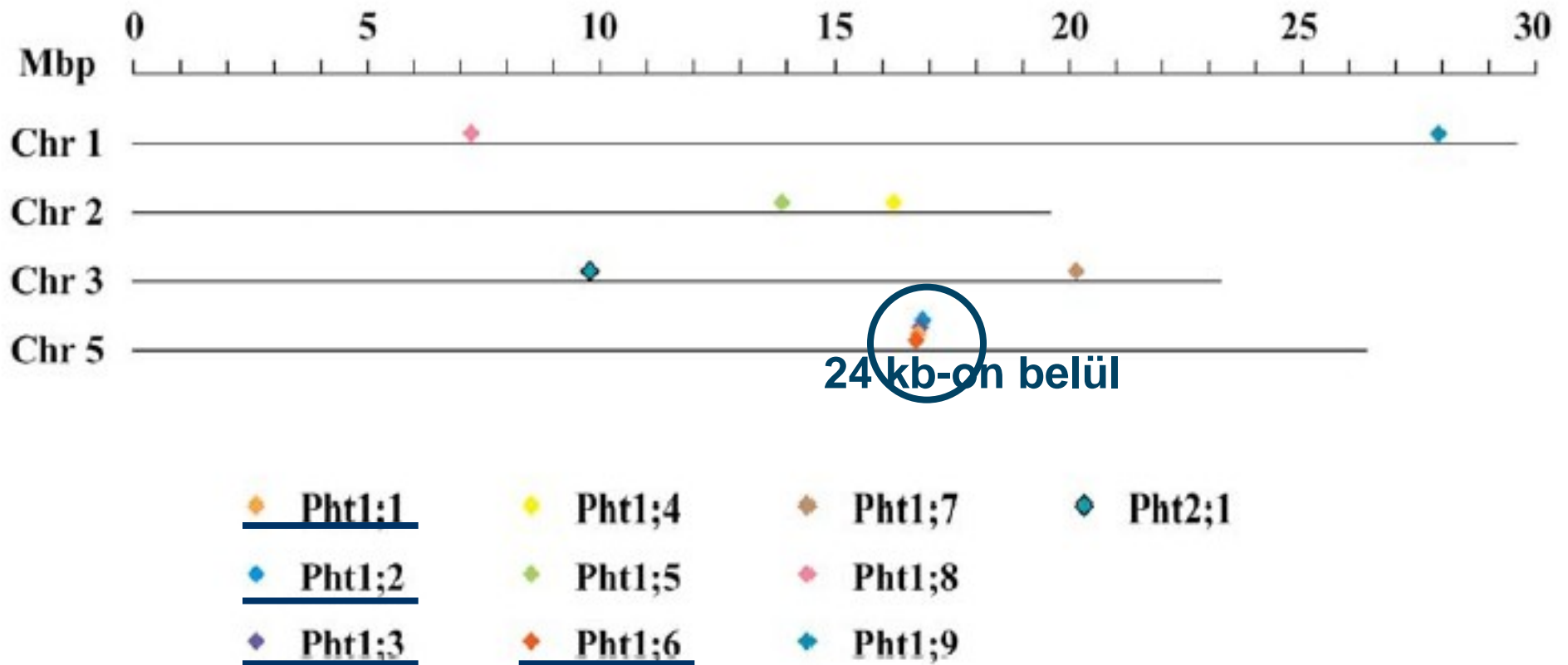
működéséhez H^+ gradienst igényel

A foszfát transzportereket kódoló géncsaládok:

A *Pht1* géncsalád tagjai,
melynek szabályozó funkciót tulajdonítanak,
nagyfokú szekvencia hasonlóságot mutatnak.

*Arabidopsis*ban 9,
rizsben és kukoricában legalább 11
nagy affinitású P_a transzporter gént írtak le

A *Pht1* és a *Pht2* géncsalád elhelyezkedése az *Arabidopsis* genomban



A kromoszómák hossza megabázisban van feltüntetve a felső skálán, a lókuszok az 1., 2., 3. és 5. kromoszómán találhatóak.

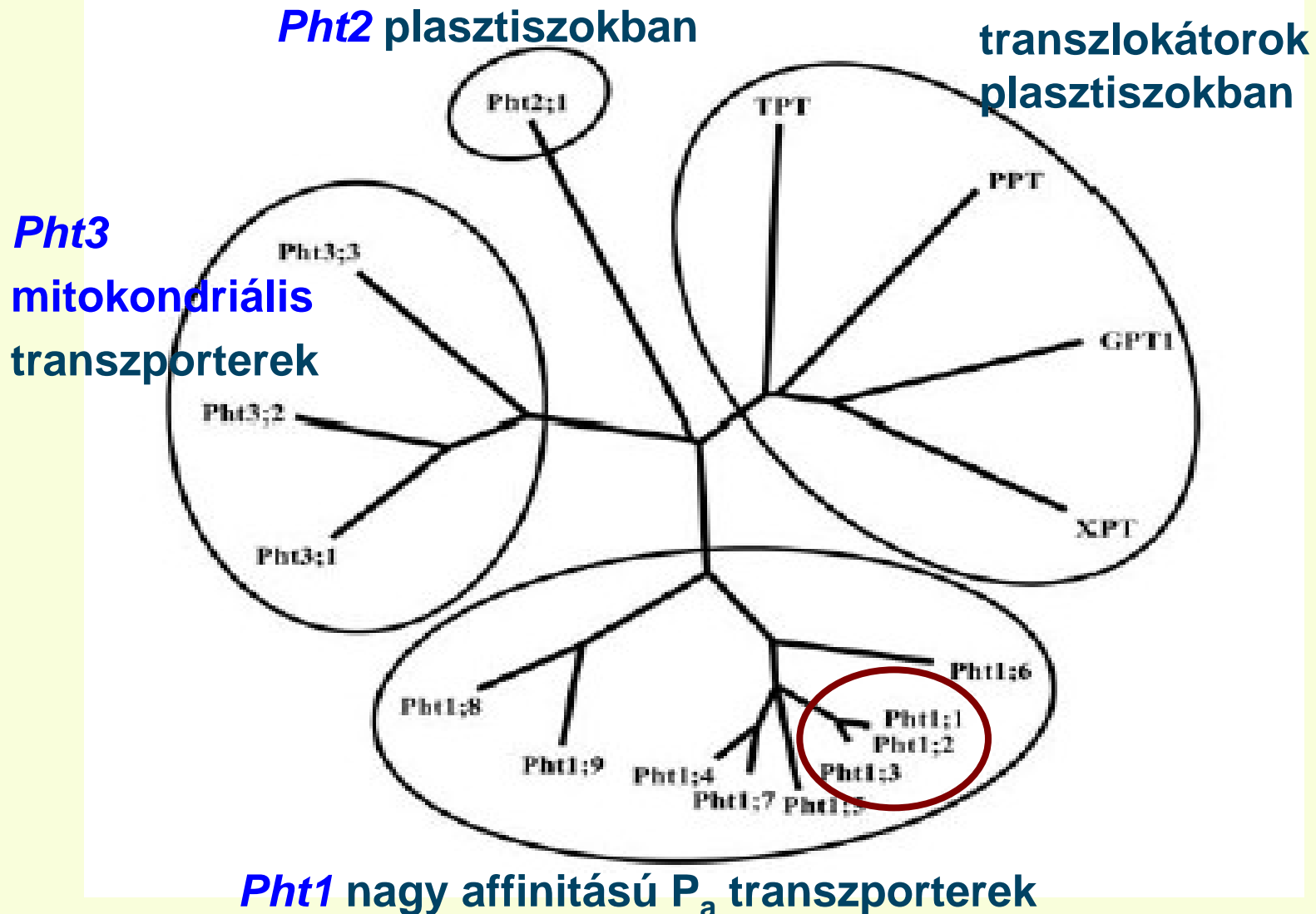
A *Pht2* sajátosságai:

- nagy hidrofil hurka a 8. és 9. hélix között található,
- a modell szerint az N- és C-terminálisok *extracellulárisan* helyezkednek el

A *Pht2;1* protein nagyon konzervatívnak bizonyult az egész élővilágban.

Pht2;1 gén a növényekben a plasztiszokban helyezkedik el,
→ elsősorban a **zöld** szövetekben expresszálódik.

Az *Arabidopsis* foszfát transzporterek aminosav szekvencia hasonlósága alapján rajzolt filogenetika fa



Pht3 kis géncsalád:

a mitokondriális P_a transzportot kódolják

309-375 aminosavból épülnek fel,

4-6 transzmembrán hélixet hoznak létre,

aminosav szekvenciájuk kb. 50%-ban egyezik.

A fotoszintézis köztes termékeinek transzportjában szerepet játszó sajátos **transzlokátorok**at találunk a **kloroplastiszok belső membránjaiban**:

foszforilált termékek \longleftrightarrow anorganikus foszfát

szubsztrát specifitásuk részben átfedő:

hatékony szubsztrát felvételt tesz lehetővé nagy koncentrációban jelen lévő foszforilált metabolit esetén is.

TPT géncsalád

TPT gén:

kloroplasztisz **t**rió**f**oszfát / P_a **t**ranszlokátor
a nappal során megkötött szénnek a klp.ból
a citoszólba juttatását végzi

PPT gén:

foszfoenolpiruvát / P_a transzlokátor
a gén a nem-zöld szövetekben aktívabb

GPT gén: glükóz 6-foszfát / P_a transzlokátor

XPT gén: valamennyi sejtorganellumban
megtalálható

A nagy affinitású foszfát transzporterek többsége a gyökerek epidermiszében expresszálódik, a gének transzkripció szintje a

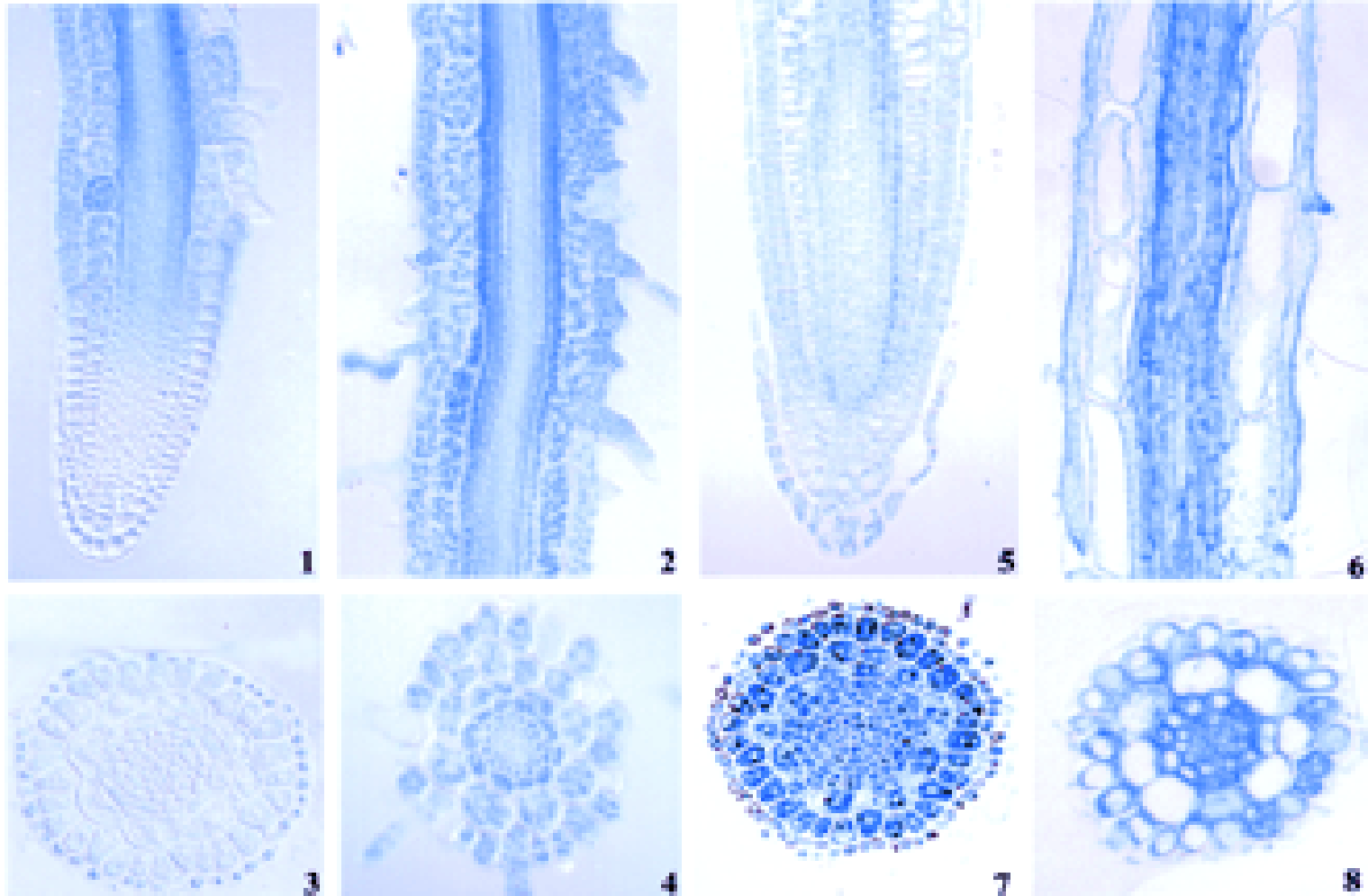
- P_a hiány időtartamával és
- súlyosságával arányban nő.

A foszfát transzporterek indukciója nagyon gyors, sejt kultúrában 3-6 órával a P_a - hiányos táptalajra helyezés után mérhető a transzkriptumok és a proteinek felhalmozódása

és szövetspecifikus

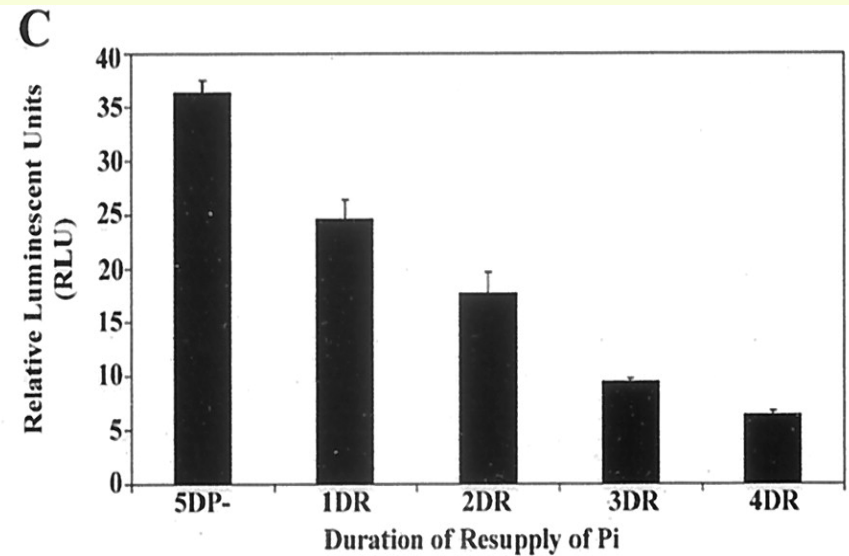
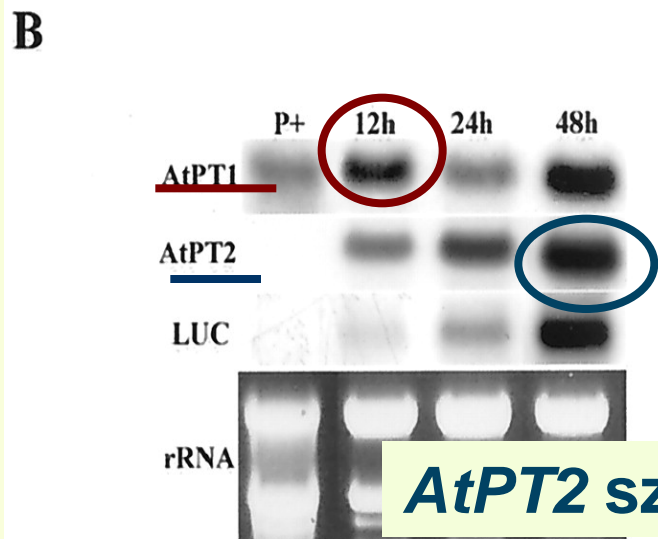
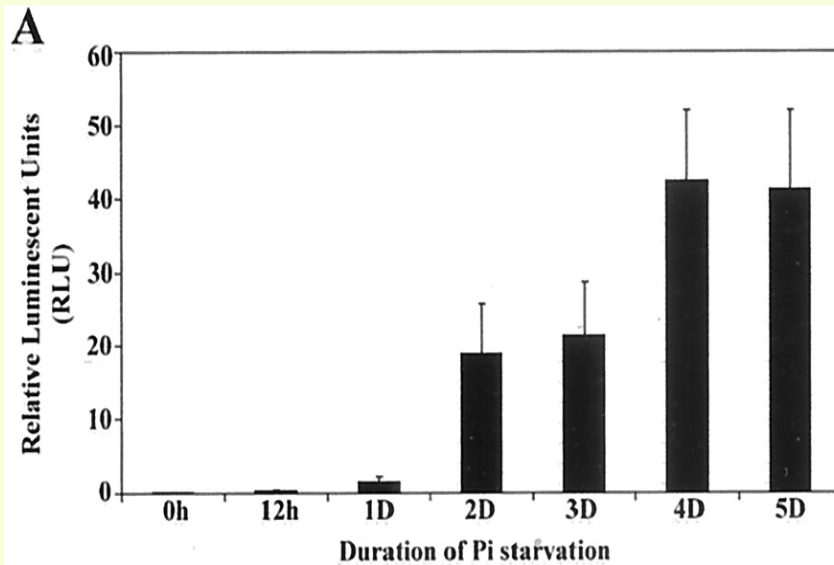
levélben csak az *LePT1* kifejeződését tapasztalták paradicsomban

Foszfát transzporterek promoterével ellátott riporter gén (***AtPT1-GUS***) expressziója *Arabidopsis* gyökerekben: gyökércsúcs hossz- és keresztmetszeteken (1, 3); a differenciálódott részeken (2, 4).



AtPT2 promoterrel ellátott GUS a gyökér minden részében expresszálódik (5-8).

Foszfát transzporterek expressziójának időbeli változása Karthikeyan et al. (2002).



AtPT2 szerepe: hosszútávú P-éhezéskor

Foszfát transzporterek expressziójának időbeli változása

Karthikeyan et al. (2002):

- A:** Az *AtPT2* promoterrel ellátott luciferáz gén (LUC) gyors indukciója figyelhető meg P_a -hiányos transzgenikus növényeken.
- B:** a P_a megvonás után különböző időben vett növényminta RNS-ét ^{32}P jelzett *AtPT1*, *AtPT2* és *LUC* cDNS-el reagáltatták.
- C:** P_a -hiányos növ. táptalajába 5 nap után $1,25 \mu M$ P_a -t juttatva vizsgálták a génindukció visszafodíthatóságát (reverzibilitását), más növényeket továbbra is P_a -mentes táptalajon neveltek és a különböző időben vett mintákon vizsgálták a riporter gén aktivitását.
DR: ismételt P_a -ellátás utáni napok,
DP: további P_a -mentes napok.
- D:** a *AtPT1*, *AtPT2* és *LUC* gének expresszióját mutató Northern-blot. A különböző időben vett növényminta RNS-ét ^{32}P jelzett cDNS-el hibridizáltatták

A foszforhiányos növényekben
növekszik a **nagy affinitású foszfát**
transzporterek száma

A növények jóval a sejtek
 P_a készletének a kimerülése előtt aktiválják
a P_a felvételben szerepet játszó mechanizmusukat.

A transzporter gének expressziójának

- időbeli,
- térbeli,
- P_a -ellátottságtól függő változása

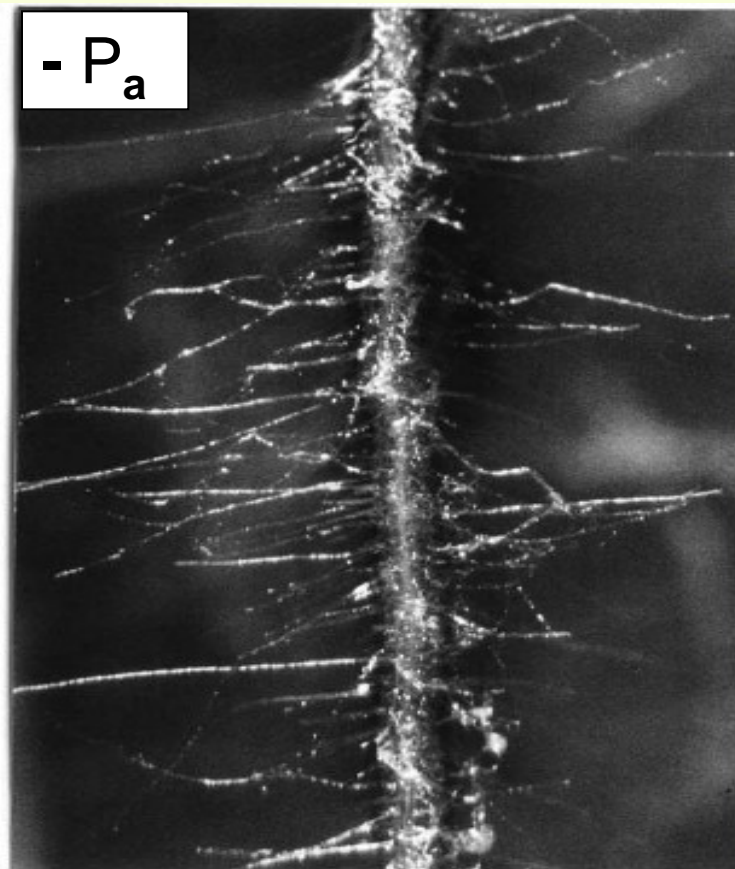
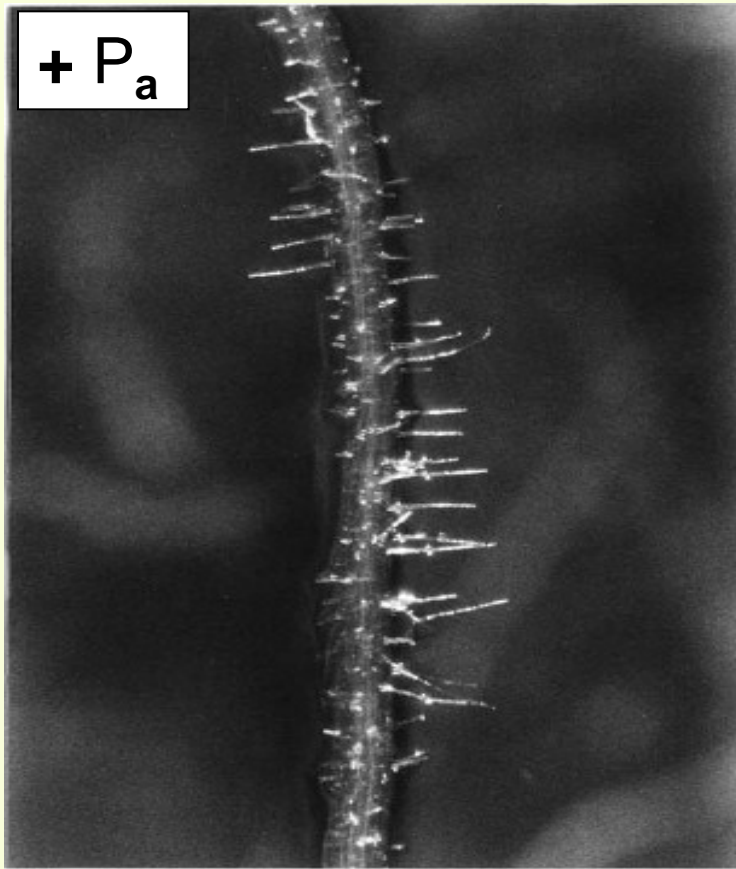
a transzporterek eltérő biológiai funkciójára utal.

Ismételt P_a ellátás hatására
a nagy affinitású foszfát transzporterek
gyorsan eltűnnek a gyökerekből.

A növények úgy változtatják a P_a felvételét
a folyamatosan változó P_a szolgáltató képességű környezetben,
hogy az **ne vezessen toxikus P_a felhalmozódáshoz.**

A **túlzott foszfor ellátást** és P_a felvételt
a gyökerek P_a kibocsátása (**efflux**) ellensúlyozza.

A P_a hiányos környezetben fejlődő növények gyökér morfológiájának változása



A.t.-ban a foszforhiány hatása:

- elsődleges gyökerek növekedésének gátlásával
- másodlagos gyökerek fokozott elágazódásával,
- megnövekedett gyökérszőr képződéssel jár.

→ **megnő az összes gyökérfelület
a föld feletti részekhez viszonyítva**

Az újonnan képződött gyökerekben
a nagy affinitású foszfát transzporterek
expressziója fokozódik.

A **gyökerek morfológiáját és architektúráját** érintő változások nagyon hasonlítanak egyes **hormonok** hatására bekövetkező változásokra:

etilén: serkenti

- az oldal irányú növekedést és
- a gyökérszőrök képződését

*Arabidopsis*ban bizonyított, hogy a P_a -hiányra aktiválódó gének expresszióját a hormonok is szabályozzák: a **citokinin** és az **auxin gátolja** a P_a transzporterek expresszióját.

A hormonok mellett a növekedést befolyásoló egyéb tényezők is közreműködnek a P_a -hiányra indukálható gének aktiválásában.

A **cukrok** jelenléte a közegben szükséges a P_a -transzporterek expressziójához *A.t.*-ban.

A szénhidrátok szerepe P_a -hiány-reakcióban:

szénhidrátok



gyökér



gyökérnövekedés,
szervessav-kibocsátás



P_a -felvehetőség
fokozása

A reproduktív szervek fejlődése idején
az öreg levelekből a P_a folyamatosan
áthelyeződik a fejlődő szövetekbe
(**recycling**: újra felhasználásra kerül).

Az átrendeződéshez a
különböző P_a transzporterek
egyidejű jelenléte és működése szükséges

*A molekuláris folyamatok és a
morfológiai változások finom koordinációja:
a növényi táplálkozás optimalizálása*

→ egyensúlyi állapot

(P_a homeosztázis)

Az előadás összefoglalása

- A foszfor számos biológiai folyamatban játszik meghatározó szerepet, ugyanakkor az esszenciális növényi tápanyagok közül a foszfor a legnehezebben felvehető elem.
- A növény összes foszfor tartalma megoszlik az aktív pool és a tartalék (vakuólum) között.
- A nagy affinitású foszfát transzporterek működésükhöz H^+ gradienst igényelnek
- A foszfát transzportereket kódoló géncsaládok:
Pht1 , *Pht2* , *Pht3* és a *TPT* géncsalád

Az előadás összefoglalása II.

- A foszfát transzporterek génjeinek indukciója nagyon gyors és szövet specifikus.
- A szabályozott P_a -felvétel és a P_a szerveken, szöveteken keresztüli szállítása és újrahasznosítása, v.mint a felesleges P_a -kiáramlása a gyökerekből azok a folyamatok, melyek összhangja biztosítja a növényben a foszfor-egyensúly fennmaradását.

Az előadás ellenőrző kérdései

- **Ismertesse a foszfor felvételének sajátosságait és problémáját.**
- **Jellemezze a foszfát transzportereket kódoló géncsaládokat.**
- **Mit tudunk a P_a transzporter proteinek aktivitásának szabályozásáról?**

A következő előadás címe:

TRANSZKRIPTOMIKA

KÖSZÖNÖM A FIGYELMÜKET

Az előadás anyagát készítette: Dr. Hoffmann Borbála