

# Charakterystyka białek związanych z transportem i magazynowaniem żelaza u roślin

Małgorzata Nowogórska

Joanna Kundziarz

Karolina Małas✉

Angelika Jackowska

Magdalena Migocka

Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław

✉ Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Wrocławski, ul. Kanonia 6/8, 50-328 Wrocław; tel.: (71) 375 41 11, e-mail: karolina.malas@uwr.edu.pl

Artykuł otrzymano 16 października 2017 r.  
Artykuł zaakceptowano 17 października 2017 r.

**Słowa kluczowe:** żelazo, transportery błonowe, ferrytyna, frataksyna

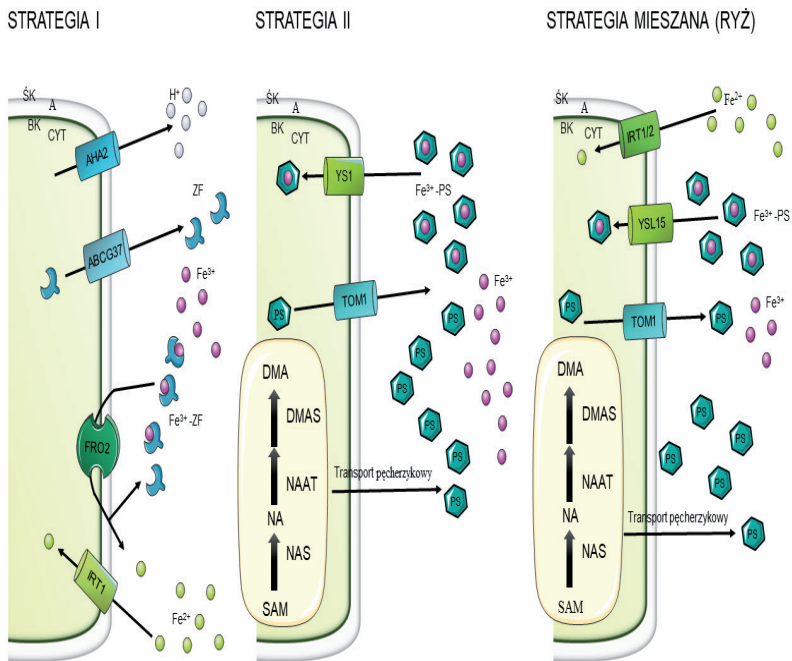
**Wykaz skrótów:** DMA – kwas deoksymugoinowy; FER – ferrytyna; FH – frataksyna; NA – nikotianamina; PS – fitosiderofory

## STRESZCZENIE

Żelazo jest metalem przejściowym niezbędnym do prawidłowego wzrostu oraz rozwoju roślin ponieważ jako składnik wielu enzymów o rozległym potencjale oksydoredukcyjnym, uczestniczy w kluczowych procesach komórkowych. W trakcie ewolucji rośliny wykształciły rozmaite systemy komórkowe, umożliwiające im ścisłą kontrolę poziomu żelaza w komórkach, tkankach i organach. Obejmują one zarówno białka błonowe, które odpowiadają za pobieranie żelaza z roztworu glebowego, daleki transport tego metalu do pędów i wewnątrzkomórkową dystrybucję żelaza pomiędzy różne organelle komórkowe, jak i białka magazynujące i chelatujące żelazo, które chronią komórki przed toksycznym działaniem wolnych jonów tego metalu i umożliwiają roślinom prawidłowy wzrost i rozwój w warunkach niedoboru tego mikroelementu w glebie. Z uwagi na kluczowe znaczenie żelaza dla funkcjonowania roślin, białka związane z transportem, chelatowaniem i magazynowaniem tego mikroelementu u roślin są w ostatnich latach przedmiotem bardzo intensywnych badań. Niniejsza praca przedstawia istniejący zaktualizowany stan wiedzy na temat tych białek a także mechanizmów ich regulacji.

## WPROWADZENIE – WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNE I DOSTĘPNOŚĆ ŻELAZA

Żelazo należy do grupy metali śladowych, czyli takich, których masa atomowa jest większa niż 20 [1]. Jest mikroelementem niezbędnym dla prawidłowego wzrostu i rozwoju wszystkich organizmów. Z uwagi na zdolność do łatwego oddawania i przyjmowania elektronów, żelazo jest obok miedzi kluczowym składnikiem odwracalnych reakcji redoks, w których dochodzi do zmiany formy utlenienia jonów  $Fe^{2+}$  i  $Fe^{3+}$  [2]. Jako składnik grup prostetycznych, takich jak hem, klastry żelazowo-siarkowe i centra żelazowe determinuje aktywność wielu białek uczestniczących w kluczowych procesach metabolicznych komórek i tkanek. Białka zawierające hem i klastry Fe-S biorą udział w transporcie elektronów w procesach oddychania komórkowego i fotosyntezy, w transporcie i magazynowaniu tlenu, w syntezie chlorofilu i utrzymaniu struktury i funkcji chloroplastów, w usuwaniu nadmiaru wolnych rodników z komórek i kompartmentów komórkowych oraz w regulacji ekspresji genów i syntezy mikroRNA [3]. Do grupy tych białek należą tak ważne białka i enzymy jak hemoglobina, mioglobina, cytochromy, katalazy, oksydoreduktazy, peroksydazy, akonitaza, enzymy mitochondrialnego łańcucha oddechowego: reduktaza bursztynian-Q, reduktaza NADH-Q czy białko Rieske. Biologiczne znaczenie tego pierwiastka jest tak duże, że jego niedobór może prowadzić do poważnych zaburzeń wzrostu i rozwoju organizmów, a nawet do ich śmierci. Według szacunkowych danych Światowej Organizacji Zdrowia, ponad 2 miliardy ludzi na świecie cierpi z powodu anemii wywołanej niedoborem Fe w diecie [4]. Najwięcej przypadków śmiertelnych z powodu tej choroby stwierdza się w krajach Afryki, Azji i Ameryki Południowej, w regionach, których mieszkańcy odżywiają się przede wszystkim produktami pochodzenia roślinnego, uprawianymi na mało żyznych glebach. Przypuszcza się, że nawet jedna trzecia światowych zasobów gleby stanowi podłoże ubogie w żelazo dostępne dla roślin [5]. Takie statystyki mogą wydawać się zaskakujące, jeśli weźmiemy pod uwagę fakt, że żelazo występuje stosunkowo powszechnie w środowisku naturalnym: stanowi około 5,6% skorupy ziemskiej, a więc należy do grupy pięciu najbardziej rozpowszechnionych pierwiastków na ziemi [6]. Dostępność żelaza dla roślin jest jednak ściśle uzależniona od właściwości gleby. Takie parametry jak bogactwo mikroorganizmów, pH (niskie pH sprzyja pobieraniu kationów), tekstura (zawartość piasku, gliny, ilów), skład (zawartość innych pierwiastków, np. wapnia) i rodzaj gleby mają niezwykle istotny wpływ na jej natlenienie, nawodnienie oraz zawartość i dostępność składników mineralnych [7]. Żelazo należy do grupy metali przejściowych, których atomy zawierają elektrony walencyjne na więcej niż jednej podpowłoce, a więc mogą przyjmować kilka stopni utlenienia. W warunkach naturalnych żelazo występuje w postaci dwóch biologicznie czynnych form: w formie jonu żelazawego ( $Fe^{2+}$ ) i w formie jonu żelazowego ( $Fe^{3+}$ ) [8]. W glebach



**Rycina 1.** Strategie pobierania żelaza przez rośliny. ZF – związki fenolowe, PS – fitosiderofory, SAM – S-adenozylometionina, NAS – syntaza nikotianaminy, NA – nikotianamina, NAAT – aminotransferaza NA, DMA – kwas deoksymugeinowy, DMAS – syntaza DMA, ŚK – ściana komórkowa, A – apoplast, BK – błona komórkowa, CYT – cytoplazma. Rycinę wykonano używając bazy Servier Medical Art (<http://smart.servier.com/>).

dominuje forma  $Fe^{3+}$ , która jest związana z wodorotlenkami i krzemianami lecz ich rozpuszczalność jest zbyt niska, aby zapewnić wystarczającą podaż dla roślin. Wraz ze wzrostem pH gleby rozpuszczalność tych form żelaza, a więc i ich dostępność, drastycznie spadają, ponieważ dochodzi do hydrolizy, polimeryzacji i wytrącania związków Fe z roztworu glebowego [9]. Dostępność żelaza znacznie maleje także w warunkach wysokich stężeń wapnia w glebie. W porównaniu z formą  $Fe^{3+}$ , żelazo na drugim stopniu utlenienia (zredukowane przez tlen atmosferyczny) jest stosunkowo dobrze rozpuszczalne w podłożach i łatwo dostępne dla roślin [8].

Rośliny osiągają optymalny wzrost poprzez utrzymanie stężenia żelaza na poziomie od  $10^{-9}$  do  $10^{-4}$  M [2]. Ponieważ zdecydowana większość gleb zawiera żelazo trudno dostępne dla roślin, organizmy te wykształciły w trakcie ewolucji złożone, precyzyjnie regulowane strategie, umożliwiające im pobieranie, efektywną dystrybucję oraz magazynowanie żelaza w tkankach i kompartmentach komórkowych. Kluczowymi elementami tych procesów są białka błonowe i białka chelatujące i magazynujące żelazo, które umożliwiają kontrolowane przenoszenie wolnych jonów żelaza lub chelatów żelaza przez błony komórkowe i błony organelli komórkowych oraz bezpieczne przechowywanie tego mikroelementu w komórkach.

## STRATEGIE ORAZ TRANSPORTERY UCZESTNICZĄCE W POBIERANIU ŻELAZA Z ROZTWORU GLEBOWEGO

### STRATEGIA I

W trakcie ewolucji rośliny rozwinęły dwie strategie pobierania żelaza z roztworu glebowego. Strategia I opiera się na redukcji schelatowanych jonów  $Fe^{3+}$  do jonów  $Fe^{2+}$

i stosowana jest przez wszystkie rośliny wyższe z wyjątkiem rodziny *Graminaceae* (trawy). W pierwszym etapie, aby obniżyć pH ryzosfery i zwiększyć rozpuszczalność i dostępność żelaza, rośliny wydzielają do niej protony i związki fenolowe w odpowiedzi na deficyt Fe w środowisku (Ryc. 1) [2]. W procesie wydzielania protonów biorą udział pompy protonowe ( $H^+$ -ATPazy) należące do rodziny P-ATPaz, zlokalizowane w plazmolemie komórek korzeni [10]. Wykazano, że w warunkach deficytu Fe w ryzodermie *A. thaliana* dochodzi do zwiększonej ekspresji genów *AHA1*, *AHA2* oraz *AHA7*, przy czym poziom ekspresji genu *AHA2* jest najwyższy [11]. Dysrupcja tego genu u *A. thaliana* powoduje znaczne zmniejszenie wydajności procesu obniżania pH gleby przez rośliny [11]. Ekspresja genu homologicznego białka ogórka *CsHA1* także wzrasta w odpowiedzi na brak Fe w podłożu [12]. Przypuszcza się zatem, że obydwie białka odpowiadają za sekrecję protonów do gleby i zwiększone pobieranie żelaza w warunkach jego ograniczonej dostępności.

Związki fenolowe także zwiększają dostępność żelaza dla roślin. Wykazano, że mają one zdolność do chelatowania i rozpuszczania  $Fe^{3+}$  a także jego redukcji do  $Fe^{2+}$  *in vitro* [13]. Badania nad *A. thaliana*, *Brassica napus* i *Medicago truncatula* wykazały, że związki fenolowe wydzielane przez rośliny do roztworu glebowego są pod względem chemicznym podobne do kumaryny takich jak skopoletyna i flawina. Są one syntetyzowane w warunkach deficytu żelaza przy udziale hydroksylazy 6 ferulo-CoA i wydzielane z komórek do ryzosfery przez plazmolemowy transporter z rodziny ABC, ABCG37/PDR9 (Ryc. 1) [14].

Kolejnym etapem strategii I jest odbywająca się na powierzchni korzeni redukcja  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$ , katalizowana przez plazmolemową oksydoreduktazę  $Fe^{3+}$ , która u *A. thaliana* kodowana jest przez gen *FRO2* (ang. Ferric reduction-oxidase) (Ryc. 1) [2]. Ekspresja genu kodującego to białko jest indukowana lub represjonowana w komórkach epidermalnych korzeni w warunkach odpowiednio, deficytu lub dostępności żelaza [2,5]. W porównaniu z roślinami dzikimi, rośliny z nadekspresją genu *FRO2* rosną znacznie lepiej w warunkach niskiej dostępności tego metalu [15]. Można zatem przypuszczać, że *FRO2* pełni istotną rolę w odpowiedzi roślin na deficyt żelaza w podłożu. Co ciekawe, w genomie *A. thaliana* zidentyfikowano siedem genów kodujących białka *FRO*, które charakteryzują się zróżnicowaną ekspresją organową. I tak, geny *FRO2*, *FRO3* i *FRO5* ulegają ekspresji w korzeniach, natomiast transkrypty genów *FRO6*, *FRO7* i *FRO8* wykryto w pędach [16]. Ostatnie badania wykazały, że *FRO7* uczestniczy w redukcji żelaza w chloroplastach (Ryc. 3B) [17]. Zatem procesy redukcji jonów  $Fe^{3+}$  do jonów  $Fe^{2+}$  i transportu jonów  $Fe^{2+}$  zachodzą w błonach różnych tkanek i organelli komórek roślinnych.

Ostatnim etapem strategii I jest transport zredukowanego żelaza do komórek korzeni. Proces ten katalizowany jest przy udziale transportera błonowego IRT1, zlokalizowanego w plazmolemie komórek epidermy korzeni (Ryc. 1) [18].

Białko IRT1 należy do rodziny białek ZIP (ang. *ZRT-like IRT-like Proteins*), obejmującej białka ZRT (ang. *Zinc-Regulated Transporter*) transportujące cynk, oraz białka IRT (ang. *Iron-Regulated Transporter*) transportujące żelazo [18]. IRT1 jest transporterem o wysokim powinowactwie do żelaza i ekspresja genu kodującego to białko znacznie wzrasta w warunkach deficytu żelaza w podłożu [2]. Poza korzeniami, transkrypt genu *IRT1* wykryto także w kwiatach, a dokładnie w nitkach pręcików, co pozwala przypuszczać, że białko to zaangażowane jest również w zaopatrywanie rozwijających się ziaren pyłku w żelazo [19]. Badania na mutantach drożdżowych i roślinnych wykazały, że jest to transporter multispecyficzny: oprócz jonów żelaza wykazuje zdolność do transportu jonów manganu, cynku, kobaltu i kadmu [20]. Mutanty *A. thaliana*, charakteryzujące się nieprawidłowym funkcjonowaniem genu *IRT1* są chlorotyczne, mają poważnie zaburzony wzrost i rozwój, są sterylne i umierają po 3-4 tygodniach od skiełkowania [19]. W związku z tym uważa się, że białko IRT1 jest głównym transporterem odpowiedzialnym za pobieranie żelaza przez rośliny. W genomie *A. thaliana* zidentyfikowano ortolog genu *IRT1*, gen *IRT2* [2]. Ekspresja tego genu zachodzi w zewnętrznych warstwach korzeni w warunkach niedoboru żelaza [2]. Co ciekawe, mutanty z dysrupcją genu *IRT2* nie wykazują żadnych objawów deficytu Fe. Nie stwierdzono także nadekspresji tego genu w roślinach z dysrupcją genu *IRT1* [19, 21]. Wykazano, że w przeciwieństwie do AtIRT1, AtIRT2 lokalizuje się w pęcherzykach wewnątrzkomórkowych, a więc nie uczestniczy w pobieraniu żelaza do komórki, ale raczej w akumulacji tego metalu w pęcherzykach lub jego remobilizacji z tych organelli w warunkach odpowiednio, nadmiaru lub deficytu żelaza w środowisku [21].

Ostatnie badania wykazały, że ekspresja genów kodujących białka IRT1 i FRO2 jest regulowana przez takie same czynniki transkrypcyjne: FIT, bHLH38 i bHLH39. Mianowicie, FIT wchodzi w interakcję z bHLH38 lub bHLH39 tworząc heterodimery FIT-bHLH38 lub FIT-bHLH39, które bezpośrednio aktywują transkrypcję genów *IRT1* i *FRO2* [22]. Jednoczesna aktywacja ekspresji genów odpowiedzialnych za zakwaszanie gleby (*AHA2*), redukcję chelatów  $Fe^{3+}$  (*FRO2*) i transport Fe do komórki (*IRT1*) stanowi kompleksową, ściśle powiązaną odpowiedź roślin na deficyt żelaza w glebie.

## STRATEGIA II

W przeciwieństwie do roślin dwuliściennych, trawy, w tym najpowszechniej uprawiane kukurydza, pszenica i ryż, stosują strategię II pobierania żelaza z gleby, opierającą się na chelatowaniu formy  $Fe^{3+}$ . W porównaniu ze strategią I, strategia II jest dużo bardziej wydajna, dzięki czemu rośliny trawiaste przez dłuższy czas nie odczuwają negatywnych skutków niedoboru Fe [2]. W odpowiedzi na deficyt Fe, trawy uwalniają do gleby fitosiderofory (PS) (Ryc. 1), związki o wysokim powinowactwie do  $Fe^{3+}$ , należące do rodziny kwasów mugeinowych (MA) i arwenowych (AA) [23]. Kwas mugeinowy to niebiałkowy polipeptyd, który wykryto najpierw w owsie i ryżu, a później w innych trawach, takich jak pszenica i jęczmień [24]. W komórkach roślinnych MA powstaje z nikotianaminy (NA), która jest syntetyzowana z trzech cząsteczek S-adenozylometioniny

przez syntezę nikotianaminy [2]. Następnie nikotianamina jest przekształcana do kwasu deoksymugeinowego (DMA), bezpośredniego prekursora MA, za pośrednictwem dwóch enzymów: aminotransferazy NA (NAAT) i syntazy DMA (DMAS) (Ryc. 1) [2,25]. Nikotianamina nie jest wydzielana przez rośliny do gleby, ale funkcjonuje jako chelator żelaza w komórkach roślinnych [2]. Oprócz jonów  $Fe^{2+}$  może także wiązać jony  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  i  $Ni^{2+}$  [26]. Do tej pory zidentyfikowano dziewięć różnych typów MA, przy czym każdy rodzaj trawy wytwarza własny rodzaj związku należącego do tej grupy, którego produkcja i sekrecja kontrolowane są przez stężenie żelaza w glebie [2]. Mechanizm sekrecji kwasów mugeinowych do gleby nie został jeszcze w pełni wyjaśniony; wydaje się, że mogą one być wydzielane z komórki na drodze transportu pęcherzykowego (Ryc. 1), ponieważ w trakcie wydzielania fitosideroforów i DMA przez jęczmień i ryż w komórkach korzeni obserwowano pojawienie się rozdętych pęcherzyków [27, 28]. Co więcej, wykazano, że syntaza NA jest zasocjonowana z błoną pęcherzyków wydzielniczych, a aminotransferaza NA występuje w ich wnętrzu, co sugeruje, że zarówno NA jak i DMA są produkowane we wnętrzu pęcherzyków (Ryc.1) [28]. Ostatnie badania wykazały, że kwasy mugeinowe są wydzielane z komórek także przez błonowe białko TOM1 (ang. *Transporter Of Mugineic acids*) (Ryc. 1), należące do rodziny antyporterów MFS (ang. *Major Facilitator Superfamily*) [29]. Ekspresja genów kodujących białka TOM1 u ryżu i jęczmienia znacznie wzrasta w warunkach deficytu żelaza, a nadekspresja białka TOM1 istotnie zwiększa wydzielanie fitosideroforów przez rośliny i ich odporność na deficyt żelaza [29].

Kolejnym etapem strategii II jest transport schelatowanych jonów  $Fe^{3+}$  do korzeni. Transporter błonowy odpowiedzialny za przenoszenie kompleksów  $Fe^{3+}$ -MA do komórek korzeni został po raz pierwszy zidentyfikowany u kukurydzy i nazwany YS1 (ang. *Yellow Stripe 1*) (Ryc. 1) [30]. Mutanty kukurydzy z nieprawidłowo funkcjonującym białkiem nie są zdolne do pobierania kompleksów  $Fe^{3+}$ -fitosiderofory z gleby, w związku z czym w środowisku o niskiej dostępności żelaza mają na liściach chlorotyczne zmiany w postaci żółtych pasków (żółta pasiastość, ang. *yellow stripe*). Zdolność YS1 do transportu chelatów jonów  $Fe^{3+}$  wykazano w badaniach z użyciem mutantów drożdży i roślin niezdolnych do pobierania żelaza: mutanty z ekspresją genu *YS1* odzyskiwały zdolność pobierania żelaza z podłoża wzbogaconego w kompleksy  $Fe^{3+}$ -fitosiderofory [30]. Ekspresja genu *YS1* jest indukowana w warunkach deficytu żelaza zarówno w korzeniach jak i w pędach kukurydzy, co sugeruje udział białka YS1 nie tylko w pobieraniu Fe z podłoża, ale również w dystrybucji kompleksów żelaza w obrębie części nadziemnych roślin [30].

W trakcie kolejnych badań podobne białka identyfikowano u innych roślin i określano skrótem YSL (ang. *YS-like*). Białka te należą do większej rodziny białek transportujących oligopeptydy (OPT, ang. *Oligopeptide Transporters*). Białka YSL, lokalizujące się w błonie komórkowej, uczestniczą nie tylko w pobieraniu żelaza z podłoża, ale także w dalekim transporcie żelaza oraz innych metali ( $Fe^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  i  $Cu^{2+}$ ) do pędów. Substratami dla tych białek są kompleksy metali ciężkich z fitosideroforami (rośliny jednoli-



ścienne) lub nikotianaminą (rośliny dwuliścienne) (Ryc. 2) [31]. W genomie *A. thaliana* zidentyfikowano 8 genów kodujących białka YSL. Do ekspresji genu *AtYSL1* dochodzi w komórkach miękiszu naczyniowego liści, ziarnach pyłku i młodych łuszczynek [32]. Poziom transkryptu tego genu w liściach znacznie wzrasta w warunkach nadmiaru żelaza w środowisku [32]. W porównaniu z roślinami typu dzikiego, mutanty z dysrupcją genu *AtYSL1* akumulują o 40% więcej nikotianaminy w pędzie i zawierają mniej żelaza i nikotianaminy w nasionach [32]. Ekspresja genu *AtYSL1* w roślinach *ysl1* przywraca mutantom fenotyp roślin dzikich [32]. Przypuszcza się zatem, że białko YSL1 uczestniczy w dalekim transporcie kompleksów żelaza z nikotianaminą i dostarczaniu tych kompleksów do nasion (Ryc. 2) [32]. Podobnie jak *AtYSL1*, białko *AtYSL2* lokalizuje się w błonie komórkowej i transportuje metale w kompleksach z nikotianaminą. Badania na drożdżach wykazały, że *AtYSL2* transportuje kompleksy nikotianaminy z dwuwartościowymi jonami żelaza ( $Fe^{2+}$ -NA) i miedzi ( $Cu^{2+}$ -NA), ale nie jest zdolne do transportu kompleksów żelaza  $Fe^{3+}$ , które są substratami dla białka YSL1 kukurydzy [31]. Tkankowa lokalizacja *AtYSL2* sugeruje, że białko to uczestniczy w transporcie żelaza i miedzi w naczyniach walca osiowego [31].

W genomie ryżu zidentyfikowano 18 genów YSL [33]. Dotychczas dobrze scharakteryzowano funkcję białek kodowanych przez dwa geny: *OsYSL2* i *OsYSL15*. W pobieraniu żelaza z gleby uczestniczy produkt białkowy drugiego genu, *OsYSL15* (Ryc. 1). Gen *OsYSL15* ulega ekspresji zarówno w komórkach ryzodermy, jak i w kwiatach i rozwijających się nasionach (Ryc. 2) [34]. Aktywność promotora tego genu jest najwyższa w komórkach epidermy i floemu w warunkach deficytu żelaza [34]. Białko *OsYSL15* lokalizuje się w błonie komórkowej i wykazuje zdolność do transportu kompleksów  $Fe^{3+}$ -DMA w komórkach drożdży i oocytów *Xenopus laevis* [34]. Rozwój mutantów z wyciszoną ekspresją genu *OsYSL15* jest ograniczony na etapie kiełkowania i wczesnego wzrostu [34]. Dotychczasowe wyniki badań pozwalają zatem przypuszczać, że ryżowe białko *OsYSL15* pełni dominującą rolę w pobieraniu żelaza z roztworu glebowego, uczestniczy w translokacji tego metalu w obrębie floemu do kwiatach i rozwijających się nasion (Ryc. 2) i ma istotny wpływ na początkowe etapy rozwoju roślin. Co ciekawe, ryż produkuje mniej kwasów mugeinowych niż inne rośliny trawiaste. Dzieje się tak dlatego, że ryż wykorzystuje strategię mieszaną do pobierania żelaza z gleby: transportuje żelazo do korzeni zarówno w postaci kompleksów  $Fe^{3+}$ -PS, jak i jonów  $Fe^{2+}$  [35]. Jest to możliwe dzięki obecności w komórkach ryżu transporterów jonów  $Fe^{2+}$  *OsIRT1* i *OsIRT2*, zlokalizowanych w błonie komórkowej korzeni (Ryc. 1) [35]. W przeciwieństwie do roślin nietrawiastych, aktywność oksydoreduktazy chelatów  $Fe^{3+}$  na powierzchni komórek korzeni ryżu jest jednak stosunkowo niska [35]. Prawdopodobnie jest to związane z tym, że ryż uprawiany jest na glebach podmokłych i beztlenowych, bogatych w jony  $Fe^{2+}$ , czyli w żelazo, które jest już zredukowane.

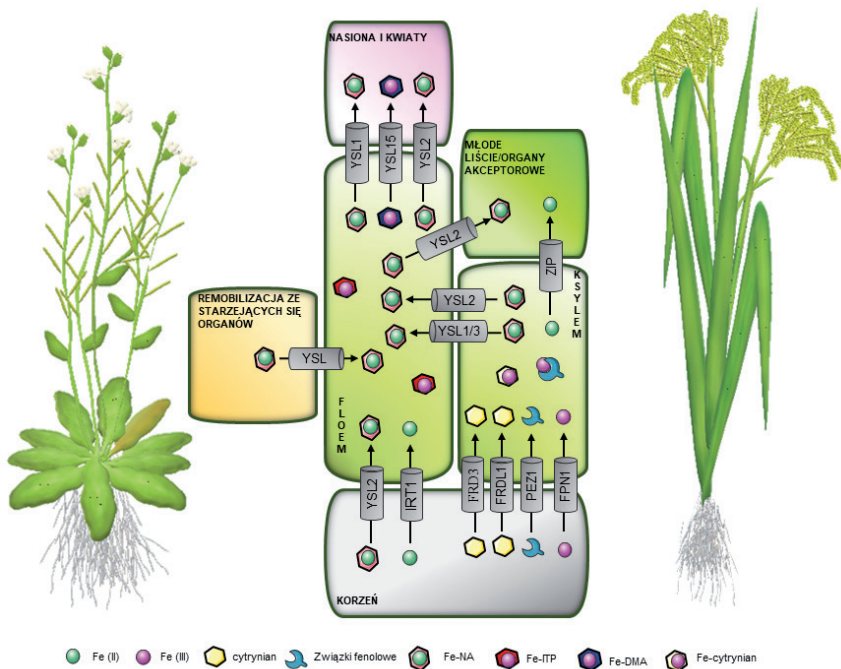
## DALEKI TRANSPORT ŻELAZA

W dalekim transporcie jonów metali w roślinach pośredniczą tkanki przewodzące: przede wszystkim ksylem, ale także floem. Metale pobrane przez komórki ryzodermy

przemieszczają się w kierunku radialnym razem z wodą do walca osiowego najpierw drogą apoplastyczną (ścianami komórkowymi) a potem symplastyczną (przez plazmodesmy) [10]. Dzieje się tak dlatego, że w okolicy endodermy transport wody drogą apoplastyczną jest utrudniony przez hydrofobowe pasemka Caspary'ego zlokalizowane w promienistych i poprzecznych ścianach tej tkanki. Po przejściu endodermy, perycyklu i miękiszu metale docierają do tkanek przewodzących, ksylemu i floemu, w obrębie których są transportowane do części nadziemnych [10]. Po dotarciu metali do miejsc docelowych (młode liście, kwiaty, elementy kwiata) następuje rozładunek tkanek przewodzących [10]. Transport daleki obejmuje także transport metali między ksylemem i floemem, dystrybucję metali między organami zawierającymi wystarczające stężenia tych pierwiastków i organami wykazującymi objawy ich niedoboru oraz remobilizację metali ze starzejących się tkanek [10].

Charakterystyczne właściwości żelaza związane z jego słabą rozpuszczalnością i wysoką reaktywnością powodują, że transport tego metalu musi być ściśle kontrolowany. Kontrolę nad reaktywnością i rozpuszczalnością żelaza podczas jego transportu między organami zapewniają czynniki chelatujące, które wiążą wolne jony żelaza i utrzymują metal w odpowiednim stanie utlenienia [10]. W ksylemie żelazo jest chelatowane przez cytrynian, który dostaje się do naczyń za pośrednictwem białka *FRD3* (ang. *Ferric Reductase Defective 3*) należącego do rodziny *MATE* (ang. *Multidrug And Toxic compound Extrusion*) (Ryc. 2) [36]. Zdolność białka *AtFRD3* do transportu cytrynianu wykazano wykorzystując oocytę *X. laevis* jako system heterologicznej ekspresji genu *AtFRD3* [36]. Gen kodujący to białko ulega ekspresji tylko w korzeniach [5]. Mutanty *A. thaliana* z dysrupcją genu *FRD3* przejawiają fenotyp typowy dla roślin uprawianych w warunkach deficytu żelaza: akumulują zwiększone ilości żelaza, manganu i cynku w pędach i indukują ekspresję genów związanych z niedoborem żelaza w środowisku [37]. Poza tym, rośliny te akumulują znacznie mniejsze ilości cytrynianu w korzeniach [36]. Deficyt cytrynianu w naczyniach prowadzi do zahamowania transportu żelaza przez ksylem do części nadziemnych roślin [11].

U ryżu analogiczną funkcję pełni prawdopodobnie transporter *OsFRDL1* (Ryc. 2), który również wykazuje zdolność transportu cytrynianu w oocytach *X. laevis* [38]. Gen kodujący to białko ulega ekspresji w korzeniach ryżu, a poziom jego transkryptu nie zmienia się w warunkach deficytu  $Fe$  [38]. Dokładniejsze analizy immunochemiczne wykazały, że produkt tego genu lokalizuje się w komórkach perycyklu [38]. W porównaniu z roślinami typu dzikiego, mutanty ryżu z dysrupcją genu *OsFRDL1* są chlorotyczne, akumulują w liściach mniej  $Fe$ , ale więcej  $Zn$  oraz  $Mn$  i wytrącają  $Fe$  w tkankach walca osiowego korzenia [38]. Mutanty cechują się także niższym stężeniem  $Fe$  i cytrynianu w soku ksylemowym niż rośliny dzikie [38]. Mutacja w obrębie tego genu powoduje jednak niewielkie zaburzenia homeostazy żelaza, co sugeruje, że ryż posiada alternatywne związki chelatujące  $Fe$  [10]. W oparciu o wyniki dotychczasowych badań przypuszcza się, że *OsFRDL1* lokalizuje się w perycyklu, gdzie odpowiada za transport cytrynianu do komórek walca osiowego i efektywną translokację kompleksów żelaza z cytrynianem do części nadziemnych ryżu.



Rycina 2. Daleki transport żelaza, NA – nikotianamina, ITP (ang. *Iron transport protein*) – dehydryna, DMA – kwas deoksymugeinowy. Rycinę wykonano używając bazy Servier Medical Art (<http://smart.servier.com/>).

Oprócz cytrynianu, w chelatacji żelaza w ksylemie ryżu uczestniczą także związki fenolowe. Niedawno zidentyfikowano u ryżu transporter odpowiedzialny za transport tych związków do naczyń, białko OsPEZ1 (ang. *Phenolics Efflux Zero*) (Ryc. 2) [13]. PEZ1 lokalizuje się głównie w plazmalemie komórek walca osiowego, a jego zdolność do transportu związków fenolowych potwierdzono w oocytach *X. laevis* [13]. W porównaniu z roślinami typu dzikiego, w mutantach ryżu z dysrupcją genu kodującego to białko zawartość kwasów protokatechowego i kawowego w soku ksylemowym jest drastycznie niższa a ilość wytrąconego żelaza w apoplazmie komórek walca osiowego znacznie wzrasta [13]. Mutanty cechują się ograniczonym wzrostem i akumulują większe ilości żelaza niż rośliny dzikie. Zakłada się, że OsPEZ1 odpowiada za import związków fenolowych do naczyń, i przez to umożliwia dystrybucję apoplastycznego żelaza [13].

Białka FRD3, FRDL1 i PEZ1 transportują związki chelatujące wykorzystywane do chelatowania żelaza, natomiast jony żelaza przenoszone są do naczyń prawdopodobnie za pomocą białka FPN1/IREG1 (ang. *Ferroportin 1/Iron Regulated*) (Ryc. 2) [39]. W komórkach *A. thaliana* AtFPN1 lokalizuje się głównie w plazmalemie komórek perycyklu. Mutanty *A. thaliana* z dysfunkcją tego białka cechują się zmniejszoną zawartością chlorofilu zarówno w warunkach dostępności jak i deficytu żelaza, sugerującą zaburzenie w transporcie żelaza do pędów [39]. W związku z tym przypuszcza się, że AtFPN1 odpowiada za załadunek ksylemu i daleki transport Fe do pędów [39].

Po załadunku tkanek przewodzących i translokacji żelaza do pędów, następuje rozładunek ksylemu i floemu i dalszy transport Fe do organów akceptorowych. Mecha-

nizm przekazywania żelaza z ksylemu do komórek liści nie został jeszcze w pełni wyjaśniony. Przypuszcza się, że w procesach uwalniania żelaza z naczyń i zaopatrywania liści w ten metal biorą udział transportery z rodziny ZIP, których geny ulegają wysokiej ekspresji w pędach (Ryc. 2) [2].

Żelazo transportowane jest do pędu także przez floem, ponieważ siła ssąca transpiracji powodująca przepływ wody i substancji mineralnych w obrębie ksylemu jest niewystarczająca do efektywnego zaopatrywania w żelazo rozwijających się nasion i wierzchołka pędu [2]. Za załadunek floemu u ryżu odpowiada prawdopodobnie białko OsIRT1 (Ryc. 2), którego ekspresja jest znacznie stymulowana w komórkach towarzyszących floemu w warunkach deficytu Fe [35]. Remobilizacja żelaza ze starzejących się liści również odbywa się za pośrednictwem floemu. W związku z tym że pH floemu jest zasadowe, rozpuszczalność żelaza w tych warunkach jest utrzymywana przez wiązanie metalu z odpowiednim chelatorem: nikotianaminą albo białkiem ITP (ang. *Iron Transport Protein*), dehydryną syntetyzowaną w pędach (Ryc. 2) [11, 39]. ITP wiąże niemal całe żelazo znajdujące się we floemie i znacznie przyspiesza jego transport w obrębie tej tkanki [11]. Transport Fe w obrębie komórek floemu ryżu odbywa się za pośrednictwem białka OsYSL2. W warunkach deficytu żelaza gen kodujący to białko ulega ekspresji tylko w komórkach floemu wiązek przewodzących liści, natomiast w obecności żelaza w podłożu, ekspresję tego genu obserwuje się we wszystkich tkankach liści, w komórkach towarzyszących floemu korzeni oraz w rozwijających się nasionach [33]. Analizy funkcji białka OsYSL2 w oocytach *Xenopus laevis* wykazały, że transportuje ono kompleksy Fe<sup>2+</sup>-NA oraz Mn<sup>2+</sup>-NA, ale nie jest zdolne do transportu kompleksu Fe<sup>3+</sup>-PS [33]. Przypuszcza się, że OsYSL2 odpowiada za translokację kompleksów Fe<sup>2+</sup>-NA oraz Mn<sup>2+</sup>-NA do nasion przez floem (Ryc. 2) [33].

Transport żelaza z ksylemu do floemu u *A. thaliana* odbywa się także za pośrednictwem białek YSL (Ryc. 2). Spośród ośmiu białek YSL tej rośliny, do tej pory scharakteryzowano trzy: AtYSL1, AtYSL2 i AtYSL3. W badaniach na drożdżach, tylko AtYSL1 i AtYSL2 wykazywały zdolność do transportu kompleksów Fe-NA [39]. Wszystkie trzy geny ulegają wysokiej ekspresji w tkankach naczyniowych [39]. Podwójna mutacja *ysl1ysl3* u *A. thaliana* powoduje plejotropowe efekty roślin: chlorozy, obniżoną zawartość żelaza w liściach i nasionach, zaburzoną remobilizację Zn i Cu ze starzejących się organów, zaburzenia rozwoju zarodków i wytwarzania pyłku [40]. Co więcej, transdukcja sygnału związana z odpowiedzią podwójnych mutantów na dostępność Fe w środowisku jest także zaburzona. Wydaje się zatem, że białka YSL1 i YSL3 mogą działać nie tylko jako transportery Fe, ale także jako receptory odbierające informację o stężeniu tego pierwiastka w komórkach (transceptory) [41].



## WEWNĄTRZKOMÓRKOWY TRANSPORT ŻELAZA

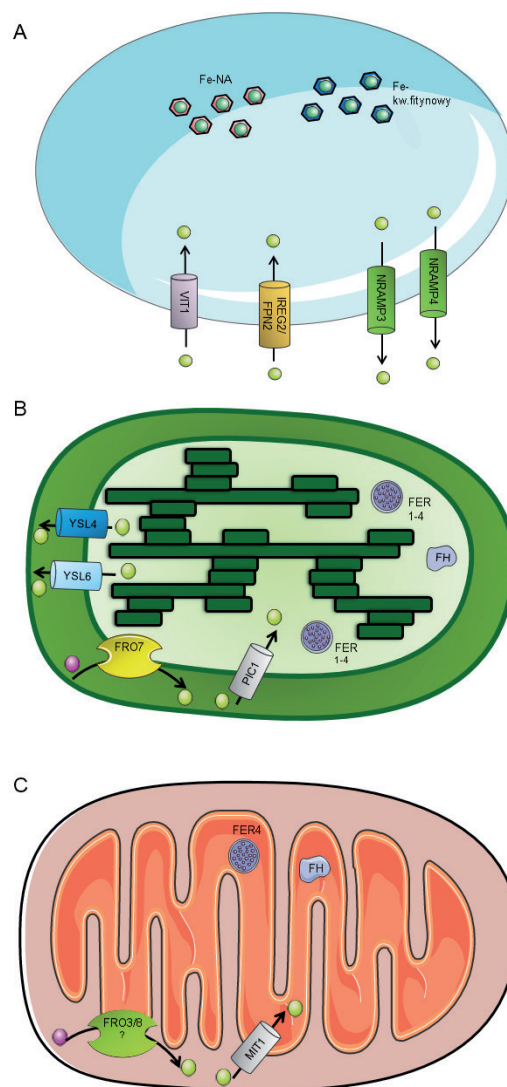
Wewnątrz komórki żelazo kierowane jest do organelli o wysokim zapotrzebowaniu na żelazo, takich jak mitochondria i chloroplasty, w których zachodzą procesy ściśle zależne od obecności tego metalu, a także do wakuoli, organelli magazynujących nadmiar komórkowego żelaza (Ryc. 3) [2].

### WAKUOLARNE TRANSPORTERY ŻELAZA

Wewnątrz wakuoli żelazo przechowywane jest prawdopodobnie w postaci kompleksów z kwasem fitynowym i nikotianaminą [11]. Udział wakuoli w sekwestracji komórkowego żelaza służy z jednej strony ochronie komórek roślinnych przed toksycznym nadmiarem tego metalu, a z drugiej strony zaopatrywaniu komórek w żelazo w warunkach zwiększonego zapotrzebowania roślin na ten pierwiastek (podczas kiełkowania, intensywnego wzrostu, deficytu żelaza w środowisku). W tonoplaście komórek roślinnych lokalizują się zatem zarówno transportery odpowiedzialne za import żelaza do wakuoli, jak i białka eksportujące żelazo z wakuoli do cytoplazmy.

Białka katalizujące eksport żelaza z wakuoli należą do rodziny NRAMP (ang. *Natural Resistance Associated Macrophage Protein*). W komórkach *A. thaliana* są to transportery AtNRAMP3 i AtNRAMP4 (Ryc. 3A), które uwalniają żelazo z wakuoli podczas kiełkowania. Białka te charakteryzują się szerokim powinowactwem do metali; oprócz żelaza transportują jony manganu i kadmu [42,43]. Geny kodujące te białka ulegają ekspresji w korzeniach i pędach i są aktywowane w odpowiedzi na deficyt żelaza [42,43]. Mutanty z dysrupcją obydwu genów są nadwrażliwe na niedobór żelaza w podłożu, a ich nasiona nie są w stanie korzystać z żelaza zmagazynowanego w globoidach powstających w końcowych etapach tworzenia nasion [44]. Nadekspresja genów obydwu białek u roślin powoduje zredukowanie ekspresji genów *IRT1* i *FRO2*, związanych z pobieraniem żelaza z gleby z powodu zwiększonej mobilizacji żelaza z wakuoli. Białka o podobnej funkcji, specyficzności i lokalizacji scharakteryzowano także u hyperakumulatora metali *Thlaspi caerulescens* (TcNRAMP3 i TcNRAMP4) [45].

Import żelaza do wakuoli komórek *A. thaliana* katalizowany jest przez białka AtVIT1 (ang. *Vacuolar Iron Transporter 1*) i AtFPN2/AtIREG2 (ang. *Ferroportin 2/ Iron Regulated Protein 2*) (Ryc. 3A) [39,46]. Roślinne białko VIT1 jest homologiem drożdżowego białka CCC1 katalizującego transport żelaza do wakuoli komórek *S. cerevisiae* [47]. Białko VIT1 *A. thaliana* także lokalizuje się w błonie wakuolarniej [46]. Ekspresja genu białka AtVIT1 w komórkach *S. cerevisiae* z delecją genu *CCC1* przywraca mutantom drożdżowym zdolność przetrwania w warunkach wysokich stężeń żelaza, wskazując na udział roślinnych białek VIT w akumulacji nadmiaru żelaza w wakuolach [46]. Gen *AtVIT1* ulega ekspresji w tkankach przewodzących a poziom jego transkryptu jest znacznie podwyższony w czasie rozwoju zarodka i nasion [46]. Mutanty *Arabidopsis* z delecją genu *VIT1* mają całkowicie zaburzoną lokalizację żelaza w nasionach a ich siewki rosną bardzo słabo w warunkach niedoboru żelaza. Przypuszcza się zatem, że białko VIT1 jest niezbędne do magazynowania w wakuolach żelaza, które może być



Rycina 3. Wewnątrzkomórkowy transport żelaza. A - wakuola, B - chloroplast, C - mitochondrium, FER - ferrytyna, FH - frataksyna, NA - nikotianamina. Na zielono zaznaczone jest  $Fe^{2+}$ , na fioletowo  $Fe^{3+}$ . Rycinę wykonano używając bazy Servier Medical Art (<http://smart.servier.com/>).

wykorzystywane do wzrostu i rozwoju roślin w warunkach niedoboru Fe w środowisku [46].

Oprócz AtVIT1, w transporcie żelaza do wakuoli uczestniczy także ferroportyna AtFPN2/AtIREG2. Białko IREG2/FPN2 jest wakuolarnym ortologiem plazmolemowego białka IREG1/FPN1. Gen kodujący to białko ulega ekspresji w zewnętrznych warstwach korzeni w odpowiedzi na deficyt żelaza [39]. Oprócz żelaza, AtFPN2/AtIREG2 katalizuje także transport jonów kobaltu: dysfunkcja tego białka u *A. thaliana* powoduje zwiększenie wrażliwości roślin na kobalt i zwiększoną akumulację tego metalu w pędach [39]. Jak dotąd, brakuje danych o homologicznych białkach u innych roślin.

### TRANSPORTERY ŻELAZA W CHLOROPLASTACH

Chloroplasty akumulują od 80 do 90% żelaza występującego w komórkach [2]. Tak znaczna ilość Fe jest niezbędna chloroplastom do syntezy chlorofilu, przeprowadzenia fo-

tosyntezy, biosyntezy hemu i składania klastrów Fe-S. Mechanizm transportu żelaza do chloroplastów nie jest jeszcze w pełni poznany. W chloroplastach *A. thaliana* zlokalizowano oksydoreduktazę FRO7 (Ryc. 3B), co pozwala przypuszczać, że żelazo transportowane jest przez błonę zewnętrzną chloroplastów w formie  $Fe^{3+}$ , która w przestrzeni międzylonowej jest redukowana do formy  $Fe^{2+}$  [11]. Rośliny *Arabidopsis* z dysrupcją genu *FRO7* cechują się znaczną redukcją poziomu Fe w chloroplastach, skutkującą dysfunkcją fotosystemów oraz niższą wydajnością fotosyntetyczną [17]. Co więcej, FRO7 warunkuje prawidłowy wzrost siewek *Arabidopsis* w warunkach niedoboru żelaza w podłożu: o ile mutanty *nramp3nramp4* rosną słabo w warunkach deficytu żelaza, mutanty *fro7* w tych samych warunkach umierają [17]. Przypuszcza się zatem, iż redukcja żelaza w chloroplastach jest niezbędna do efektywnego pobierania żelaza przez te organelle, warunkującego prawidłowy przebieg fotosyntezy i rozwój siewek [11].

Transport żelaza do stromy chloroplastów katalizowany jest przez białko PIC1 (ang. *Permease In Chloroplast 1*) (Ryc. 3B)[48]. Pierwsze badania nad tym białkiem sugerowały, że jest ono komponentem translokonu, ponieważ w trakcie preparacji wytrącało się razem z głównymi komponentami translokonów Toc i Tic [49]. Późniejsze badania wykazały, że permeaza PIC1 lokalizuje się w wewnętrznej błonie chloroplastów i jest niezbędna do utrzymania prawidłowej homeostazy żelaza w chloroplastach i w całej roślinie [48]. Heterologiczna ekspresja genu kodującego to białko w drożdżach wykazała, że transportuje ono przez błonę komórkową nie tylko Fe, ale także Cu. Mimo, iż całkowity poziom żelaza w liściach mutantów *Arabidopsis pic1* nie różni się od poziomu żelaza w liściach roślin dzikich, rozwój mutantów jest wyraźnie zaburzony: mutanty z całkowitą dysrupcją tego genu tracą zdolność do autotrofii, a uprawiane w warunkach zapewniających im przeżycie (jak organizmy heterotroficzne) wykazują fenotyp karłowatości i chlorotyczności, charakterystyczny dla roślin uprawianych w warunkach deficytu żelaza [48]. Plastydy roślin *pic1* są pozbawione tylakoidów i akumulują więcej ferrytyny [48]. Można zatem przypuszczać, że na skutek braku PIC1, żelazo w plastydach mutantów nie jest prawidłowo metabolizowane i akumuluje się w ferrytynie. Dysfunkcja genu *pic1* wpływa także na ekspresję genów kodujących nieplastydowe białka w pędach, która jest regulowana przez Fe, i powoduje represję genu kodującego importer żelaza IRT1 [48]. Wydaje się zatem, że chloroplasty pełnią ważną rolę w percepcji stężenia Fe w komórkach i istotnie wpływają na wewnątrzkomórkową homeostazę Fe.

Mechanizm eksportu żelaza z chloroplastów komórek roślinnych jest stosunkowo słabo poznany. Dopiero niedawno scharakteryzowano u *A. thaliana* białka, których funkcja związana jest z ochroną chloroplastów przed toksycznym działaniem żelaza na drodze transportu tego metalu na zewnątrz chloroplastów. Są to dwa bardzo podobne do siebie białka błonowe z rodziny YSL: AtYSL4 i AtYSL6 (Ryc. 3B). Analizy biochemiczne i immunochemiczne wykazały, że AtYSL6 lokalizuje się w błonach chloroplastowych, a analizy *in silico* sekwencji aminokwasowych obydwu białek potwierdziły obecność w obrębie ich końców aminowych peptydów tranzytowych kierujących białka do chloroplastów

[50]. Dysrupcja genów kodujących te białka u rzodkiewnika znacznie zwiększa wrażliwość rośliny na nadmiar żelaza w środowisku i powoduje zatrzymanie żelaza w chloroplastach [50]. Z kolei nadekspresja genów *AtYSL4* i *AtYSL6* w rzodkiewniku redukuje tolerancję rośliny na deficyt Fe i powoduje znaczne obniżenie Fe w chloroplastach [50]. Można zatem sądzić, że AtYSL4 i AtYSL6 uczestniczą w detoksykacji chloroplastów z nadmiaru Fe w warunkach nadmiaru tego metalu w środowisku [50]. Do tej pory nie scharakteryzowano podobnych białek u innych roślin.

## MITOCHONDRIALNE TRANSPORTERY ŻELAZA

Mitochondria komórek roślinnych wykorzystują żelazo do oddychania oraz syntezy hemu i klastrów żelazowo-siarkowych, jednak nadmiar wolnych jonów żelaza w tych organelach jest bardzo toksyczny. Zatem pobieranie i utrzymanie homeostazy żelaza w mitochondriach musi być ściśle kontrolowane. Białka odpowiedzialne za transport żelaza z cytoplazmy do mitochondriów należą do konserwatywnej rodziny MCF (ang. *Mitochondrial Carrier Family*) zawierającej niewielkie białka (~ 30 kDa) lokalizujące się w wewnętrznej błonie mitochondrialnej i transportujące różnorodne związki (kwasy ketonowe, nukleotydy, aminokwasy) do macierzy mitochondrialnej [51]. Pierwsze białka MCF odpowiedzialne za import żelaza z cytoplazmy do mitochondriów zidentyfikowano u drożdży i nazwano MRS3 i MRS4 (ang. *Mitochondrial RNA Splicing 3 i 4*) [52]. Podobne białka, zwane odąd mitoferrydami, zidentyfikowano później u innych organizmów, takich jak ludzie, myszy, muszka owocowa, danio pręgowany i ryż [53-56]. Mitoferrynę zidentyfikowaną i scharakteryzowaną u ryżu nazwano MIT1 (ang. *Mitochondrial Iron Transporter 1*) (Ryc. 3C). Ekspresja genu kodującego białko MIT1 w mutantach drożdży z delecją genów *MRS3* i *MRS4* ( $\Delta mrs3\Delta mrs4$ ) znosi nadwrażliwość mutantów na deficyt żelaza w podłożu, co potwierdza udział MIT1 w imporcie żelaza do mitochondriów [56]. MIT1 jest niezbędny do życia rośliny, ponieważ całkowita dysfunkcja genu kodującego to białko u ryżu jest letalna na etapie embrionów, a wyciszenie jego ekspresji skutkuje spowolnionym wzrostem, zmniejszoną produkcją nasion, redukcją chlorofilu, redukcją zawartości żelaza w mitochondriach oraz zmniejszoną aktywnością mitochondrialnej akonitazy, sugerującą zmniejszoną syntezę klastrów Fe-S w mitochondriach [57]. Ekspresja genu *MIT1* zachodzi w sposób ciągły niezależnie od etapu rozwojowego ryżu i jest pozytywnie regulowana przez żelazo, co potwierdza istotną rolę tego białka w mitochondrialnym metabolizmie żelaza [58].

Podobnie jak żelazo transportowane do chloroplastów, żelazo transportowane przez MIT1 do mitochondriów jest prawdopodobnie wcześniej redukowane do formy  $Fe^{2+}$  przez oksydoreduktazę Fe. Analizy *in silico* wykazały, że u *A. thaliana* dwie oksydoreduktazy Fe: FRO3 i FRO8 mogą lokalizować się w mitochondriach i redukować jony  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$  (Ryc. 3C) [58]. Jednak do tej pory nie zidentyfikowano podobnych białek u ryżu i nie potwierdzono eksperymentalnie mitochondrialnej lokalizacji białek FRO3 i FRO8 oraz ich funkcji w redukcji żelaza. Zatem mechanizm transportu Fe do mitochondriów pozostaje do końca niejasny. Jak dotąd nieznanne są również białka odpowiedzialne za eksport Fe z mitochondriów.



## BIAŁKA WIĄŻĄCE ŻELAZO W KOMÓRKACH ROŚLINNYCH

Kiedy wolne jony żelaza znajdują się w macierzy mitochondrialnej oraz w stromie chloroplastu, muszą być natychmiast schelatowane lub związane, aby nie spowodowały stresu oksydacyjnego. Za magazynowanie żelaza w komórkach organizmów żywych odpowiadają ferrytyny, wysokocząsteczkowe białka zdolne do wiązania i przechowywania żelaza, zidentyfikowane u ludzi, zwierząt, roślin, grzybów i bakterii. U roślin ferrytyny akumulują się w pędach, wierzchołkach korzenia, nasionach i brodawkach korzeniowych [59]. Ze względu na dużą gęstość elektronów w jądrze żelaza, pierwsze badania lokalizacji roślinnych ferrytyn prowadzono za pomocą mikroskopii elektronowej. Wykazano wtedy, że w komórkach roślinnych ferrytyny występują tylko w stromie niezielonych plastydów (proplastydach, etioplastach i amyloplastach) [60]. Dalsze badania wykazały, że w komórkach roślinnych ferrytyna lokalizuje się również w mitochondriach (Ryc. 3C) [61-63]. Ferrytyny są niezbędne w utrzymywaniu homeostazy żelaza i zapobiegają negatywnym skutkom nadmiaru żelaza w plastydach i mitochondriach polegającym na indukcji przez wolne jony  $Fe^{2+}$  syntezy rodnika hydroksylowego [64,65]. Są to białka globularne o skomplikowanej strukturze przestrzennej: przyjmują kształt kuli-klatki, której szkielet zbudowany jest z identycznych 24 podjednostek zawierających wielokrotnie powtórzone miejsca oddziaływania metal-białko [66]. Białka te mają aktywność ferroksozydazy: utleniają jony  $Fe^{2+}$  do jonów  $Fe^{3+}$ , które przechowują w rdzeniu klatki w formie uwodnionych tlenków żelaza i fosforanów [64]. Każda cząsteczka ferrytyny może zmagazynować od 2000 do 4000 atomów  $Fe^{3+}$  w formie rozpuszczalnej, nietoksycznej i biodostępnej [59]. Molekularne mechanizmy uwalniania żelaza zmagazynowanego w ferrytynach nie są jeszcze dobrze poznane. Badania *in vitro* na ferrytynach zwierzęcych wykazały, że uwolnienie Fe z ferrytyny wymaga obecności chelatora żelaza lub czynnika redukującego, natomiast badania *in vivo* na zwierzętach pokazały, że do uwolnienia Fe z ferrytyn niezbędna jest proteolityczna degradacja tych białek [59]. Proces uwalniania Fe z ferrytyn roślinnych nie został dotąd opisany. Analizy filogenetyczne wykazały, że ferrytyny roślinne i zwierzęce prawdopodobnie pochodzą od wspólnego przodka [60], a koniec aminowy tych białek charakteryzuje się sekwencją o wysokim stopniu zachowania w ewolucji u roślin [59]. Jednakże, w przeciwieństwie do ferrytyn zwierzęcych, ferrytyny roślinne powstają na matrycy mRNA jako prekursor, zawierające na końcu aminowym fragment peptydowy specyficzny tylko dla roślin [59]. Fragment ten składa się z dwóch części: krótsza, zwana przedłużeniem peptydowym (ang. *extension peptide*), jest częścią podjednostki dojrzałej ferrytyny, zaangażowaną w kontrolę stabilności białka w trakcie wymiany żelaza, natomiast dłuższa, stanowiąca peptyd tranzytowy, odpowiada za kierowanie ferrytyny do określonego miejsca docelowego w komórce [59]. Regulacja aktywności ferrytyn u zwierząt i roślin także przebiega odmiennie. Zawartość ferrytyn zwierzęcych jest regulowana na poziomie translacji przez białka odpowiedzi na żelazo IRP (ang. *Iron Response Protein*), które wiążą się do elementu odpowiedzi na żelazo IRE (ang. *Iron Response Element*), występującego w obrębie regionu UTR5 mRNA genu ferrytyny [59]. Elementy IRE

to specyficzne struktury o kształcie spinki, które wykazują wysokie powinowactwo do białek represorowych IRP1 i IRP2 [59]. Wiązanie białek IRP do elementów IRE jest zależne od poziomu Fe w komórce oraz stanu redoks komórki. W warunkach niskiego stężenia żelaza, białka IRP tworzą kompleksy z elementami IRE, które blokują skanowanie mRNA genu ferrytyny przez rybosom i przez to uniemożliwiają translację transkryptów tego białka [59]. W warunkach wysokiego stężenia żelaza w komórce, białko IRP1 traci zdolność wiązania elementów IRE, a białko IRP2 ulega degradacji na drodze zależnej od ubiquityny, co w rezultacie umożliwia biosyntezę ferrytyny [59]. W przeciwieństwie do ferrytyn zwierzęcych, regulacja aktywności ferrytyn roślinnych zachodzi głównie na poziomie transkrypcji [60]. Akumulacja ferrytyn w komórkach roślinnych następuje w odpowiedzi na warunki stresowe, takie jak nadmiar żelaza w środowisku, stres oksydacyjny wywołany  $H_2O_2$  i ozonem, oraz w odpowiedzi na kwas abscysynowy [59].

U *A. thaliana* zidentyfikowano 4 ferrytyny, z których AtFER1, AtFER2 i AtFER3 lokalizują się w plastydach, natomiast AtFER4 lokalizuje się prawdopodobnie w mitochondriach lub w mitochondriach i plastydach (Ryc. 3B,C) [11]. Tkankowa lokalizacja i regulacja ferrytyny AtFER2 różni się od pozostałych paralogów. Gen *AtFER2* ulega ekspresji tylko w nasionach, natomiast transkrypty genów *AtFER1*, *AtFER3* i *AtFER4* wykryto w pędach i kwiatach, a w przypadku *AtFER1* także w korzeniach [59]. Ekspresja genów *AtFER1*, *AtFER3* i *AtFER4* znacznie wzrasta pod wpływem Fe, natomiast ekspresja genu *AtFER2* jest indukowana w odpowiedzi na roślinny hormon ABA [59]. Powszechnie uważa się, że funkcja ferrytyn polega na buforowaniu poziomu Fe w komórkach, magazynowaniu nadmiaru tego metalu i ochronie komórek przed stresem oksydacyjnym. Dysrupcja wszystkich trzech genów *AtFER1*, *AtFER3* i *AtFER4* u *A. thaliana* wywołuje zmianę tkankowego rozmieszczenia Fe: potrójne mutanty uprawiane w obecności Fe akumulują podwyższone ilości tego metalu w kwiatach, a nie w pędach, co prowadzi do stresu oksydacyjnego w kwiatach i ich deformacji [11]. Fenotyp mutantów wskazuje na istotną rolę chloroplastów i chloroplastydowych ferrytyn w magazynowaniu żelaza i ochronie kwiatów przed nadmierną akumulacją tego metalu.

Jak już wspomniano, analizy sekwencji aminokwasowych ferrytyn *A. thaliana* sugerują, że ferrytyna AtFER4 może lokalizować się w mitochondriach [11]. Rośliny z dysrupcją genu *AtFER4* nie różnią się fenotypowo od roślin dzikich, co sugeruje, że oprócz AtFER4 inne paralogi ferrytyn mogą być transportowane do mitochondriów komórek roślinnych, lub że funkcję AtFER4 przejmuje mitochondrialna frataksyna [11]. Prawdopodobnie AtFER4 nie jest niezbędna do utrzymania funkcji mitochondriów w warunkach optymalnych. Jednakże ekspresja genu kodującego to białko jest regulowana przez Fe i stres oksydacyjny: wzrasta w odpowiedzi na podwyższone stężenia Fe lub zmniejsza się w warunkach stresu oksydacyjnego, wskazując na udział AtFER4 w odpowiedzi na warunki stresowe wywołane nadmiarem Fe [59]. Najwyższy poziom transkryptu genu *AtFER4* stwierdzono w kwiatach i łodygach kwiatowych, co sugeruje, że podobnie jak mitochondrialne ferrytyny człowieka i muszki owocowej, AtFER4 może pełnić ważną funk-



cję w organach reprodukcyjnych bogatych w mitochondria [11].

Drugie białko, uczestniczące w chelatowaniu wolnych jonów żelaza to frataksyna. Podobnie jak mitochondrialne ferrytyny, roślinne mitochondrialne frataksyny są poznane bardzo słabo. Zakłada się, że tak jak ferrytyny, mitochondrialne frataksyny uczestniczą w magazynowaniu Fe i regulacji homeostazy tego metalu w macierzy mitochondrialnej (Ryc. 3C) [67]. Frataksyna to białko o sekwencji o wysokim stopniu zachowania w ewolucji, występujące powszechnie w organizmach żywych: geny i białka frataksyny zidentyfikowano u bakterii, drożdży, ssaków i roślin [68]. Białko to po raz pierwszy zidentyfikowano u człowieka, wykazując, że jego niedobór powoduje zwyrodnienie części układu nerwowego i mięśnia sercowego zwane ataksją Friedricha. Badania na *S. cerevisiae* wykazały, że frataksyna z drożdży (mYfh1p) uczestniczy w utrzymaniu homeostazy żelaza w mitochondriach [69]. Jej brak w komórkach drożdży powoduje zaburzenia w eksporcie żelaza z mitochondriów i zwiększoną akumulację tego metalu w macierzy mitochondrialnej w formie amorficznych nanocząsteczek fosforanu żelaza, które nie mogą być wykorzystane w procesach metabolicznych [70]. Na skutek braku frataksyny, w mitochondriach dochodzi do indukowanej nadmiarem żelaza oksydacyjnej degradacji mitochondrialnego DNA, a także do redukcji aktywności białek zawierających klastry Fe-S, która powoduje zaburzenia oddychania [58]. Wykazano, że frataksyna bezpośrednio oddziałuje z białkiem rusztowania Isu (ang. *Iron sulphur cluster U*), stanowiącym element kompleksu ISC (ang. *Iron Sulphur Cluster*) syntetyzującego klastry Fe-S i tym samym umożliwia przeniesienie żelaza na to białko w trakcie syntezy klastrów [58]. Ze względu na zdolność frataksyny do wiązania Fe i przeniesienia żelaza na białko Isu, uważa się, iż białko to jest mitochondrialnym chaperonem żelaza [71].

Pierwszym organizmem fotosyntetyzującym, u którego zidentyfikowano frataksynę była roślina *A. thaliana* [72]. Ekspresja genu kodującego białko *A. thaliana* (AtFH) w drożdżach komplementowała fenotyp mutantów drożdżowych z dysrupcją genu endogennej frataksyny, wskazując na to, że obydwie białka, roślinne i drożdżowe, pełnią podobne funkcje. Frataksyna jest niezbędna do życia roślin, ponieważ dysrupcja genu kodującego to białko u rzodkiewnika jest letalna na etapie zarodka [73]. Wyciszenie ekspresji genu frataksyny u *A. thaliana* powoduje zwiększoną akumulację żelaza i reaktywnych form tlenu w mitochondriach transgenicznych roślin [74]. Co więcej, aktywność enzymów zawierających klastry Fe-S, akonitazy i dehydrogenazy bursztynianowej jest znacznie zredukowana w komórkach roślin *atfh*, co sugeruje, że roślinne frataksyny także uczestniczą w biosyntezie klastrów Fe-S pełniąc funkcję mitochondrialnych chaperonów Fe [75]. Wykazano, że AtFH bezpośrednio oddziałuje z desulfurazą cysteinową AtNfs1m, która dostarcza siarkę do syntezy klastrów Fe-S i moduluje kinetyczne właściwości tego enzymu, co potwierdza kluczową rolę frataksyny w syntezie klastrów Fe-S w mitochondriach komórek roślinnych.

Stosunkowo niedawno wykazano obecność frataksyny w chloroplastach *A. thaliana*, co wskazuje na podwójną lokalizację

białka AtFH u tej rośliny (Ryc. 3B) [76]. Niedobór AtFH wpływa na działanie łańcucha transportu elektronów oraz poziom żelaza i chlorofilu, a przez to również na funkcjonowanie chloroplastów. Przekłada się on również na redukcję poziomu ferredoksyny oraz spadek aktywności reduktazy azotynowej, białek zawierających klastry Fe-S. Wyniki te świadczą o ważnej roli frataksyny w metabolizmie klastrów Fe-S w chloroplastach [76].

## PODSUMOWANIE

Utrzymywanie homeostazy żelaza jest niezmiernie ważne dla przebiegu kluczowych dla roślin procesów takich jak fotosynteza, oddychanie komórkowe, metabolizm nukleotydów czy synteza chlorofilu, co z kolei, w przypadku rolnictwa, przekłada się na otrzymywanie odpowiedniej biomasy oraz jakości odżywczej roślin uprawnych. Niestety, niedostateczna biodostępność żelaza w glebach wpływa na ograniczenie ich wzrostu i rozwoju, oraz powoduje redukcję plonowania. W ostatnich latach dokonano znaczącego postępu w badaniach mających na celu przybliżenie roli białek transportujących oraz magazynujących żelazo w homeostazie tego metalu w roślinach. Znane są obecnie transportery odpowiedzialne za pobieranie żelaza z gleby, jego transport z korzeni do pędów czy organów reprodukcyjnych oraz uczestniczących w wakuolarnym transporcie Fe. Niestety, wiele aspektów dotyczących transportu i homeostazy żelaza w roślinach pozostaje niejasnych. Do tej pory wciąż niewiele wiadomo na temat białek związanych z mitochondrialnym oraz chloroplastowym transportem tego metalu oraz mechanizmów ich regulacji. W związku z tym prowadzone obecnie badania mają na celu dalszą identyfikację i charakterystykę transporterów, chelatorów i chaperonów, kluczowych dla utrzymania homeostazy żelaza w komórkach i tkankach roślinnych, umożliwiającą pełne poznanie mechanizmów regulujących procesy pobierania, transportu, dystrybucji, sekwestracji i remobilizacji żelaza u roślin.

## PIŚMIENNICTWO

1. Agnieszka K (2013) Roślinne transportery błonowe metali śladowych. *Kosmos* 62: 105-113
2. Kim SA, Guerinot ML (2007) Mining iron: Iron uptake and transport in plants. *FEBS Lett* 581: 2273-2280
3. Lipiński P, Starzyński RR, Gajowiak A, Staroń R, Styś A (2014) Metabolizm żelaza - stan wiedzy 2014. *Kosmos* 63: 299-308
4. WHO: Iron deficiency anaemia. <http://www.who.int/nutrition/topics/ida/en/>
5. Grotz N, Guerinot ML (2006) Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res* 1763: 595-608
6. Naranjo-Arcos MA, Bauer P (2016) Iron Nutrition, Oxidative Stress, and Pathogen Defense. W: Erkekoglu P, Kocer-Gumusel B (red) *Nutritional Deficiency InTech*, Rijeka, str. 63-98
7. Jones DL, Rousk J, Edwards-Jones G, DeLuca TH, Murphy DV (2012) Biochar-mediated changes in soil quality and plant growth in a three year field trial. *Soil Biol Biochem* 45: 113-124
8. Kopcewicz J, Lewak S (2007) *Fizjologia roślin*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa
9. Hell R, Stephan UW (2003) Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. *Planta* 216: 541-551
10. Kobayashi T, Nishizawa NK (2012) Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annu Rev Plant Biol* 63: 131-152

11. Morrissey J, Guerinot ML (2009) Iron uptake and transport in plants: The good, the bad, and the ionome. *Chem Rev* 109: 4553-4567
12. Santi S, Schmidt W (2009) Dissecting iron deficiency-induced proton extrusion in Arabidopsis roots. *New Phytol* 183: 1072-1084
13. Ishimaru Y, Kakei Y, Shimo H, Bashir K, Sato Y, Sato Y, Uozumi N, Nakanishi H, Nishizawa NK (2011) A rice phenolic efflux transporter is essential for solubilizing precipitated apoplasmic iron in the plant stele. *J Biol Chem* 286: 24649-24655
14. Fourcroy P, Tissot N, Gaymard F, Briat J-F, Dubos C (2016) Facilitated Fe nutrition by phenolic compounds excreted by the Arabidopsis ABCG37/PDR9 transporter requires the IRT1/FRO2 high-affinity root Fe<sup>2+</sup> transport system. *Mol Plant* 9: 485-488
15. Connolly EL, Campbell NH, Grotz N, Prichard CL, Guerinot ML (2003) Overexpression of the FRO2 ferric chelate reductase confers tolerance to growth on low iron and uncovers posttranscriptional control. *Plant Physiol* 133: 1102-1110.
16. Wu H, Ji Y, Du J, Kong D, Liang H, Ling H-Q (2010) ClpCl, an ATP-dependent Clp protease in plastids, is involved in iron homeostasis in Arabidopsis leaves. *Ann Bot* 105: 823-833
17. Jeong J, Cohu C, Kerkeb L, Pilon M, Connolly EL, Guerinot ML (2008) Chloroplast Fe(III) chelate reductase activity is essential for seedling viability under iron limiting conditions. *Proc Natl Acad Sci* 105: 10619-10624
18. Palmer CM, Guerinot ML (2009) Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Nat Chem Biol* 5: 333-340
19. Vert G (2002) IRT1, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell Online* 14: 1223-1233
20. Thomine S, Vert G (2013) Iron transport in plants: Better be safe than sorry. *Curr Opin Plant Biol* 16: 322-327
21. Vert G, Barberon M, Zelazny E, Seguela M, Briat J-F, Curie C (2009) Arabidopsis IRT2 cooperates with the high-affinity iron uptake system to maintain iron homeostasis in root epidermal cells. *Planta* 229: 1171-1179
22. Yuan Y, Wu H, Wang N, Li J, Zhao W, Du J, Wang D, Ling H-Q (2008) FIT interacts with AtbHLH38 and AtbHLH39 in regulating iron uptake gene expression for iron homeostasis in Arabidopsis. *Cell Res* 18: 385-397
23. Römheld V (1987) Different strategies for iron acquisition in higher plants. *Physiol Plant* 70: 231-234
24. Thomine S, Lanquar V (2011) Iron transport and signaling in plants. W: Geisler M, Venema K (red), Transporters and Pumps in Plant Signaling. Springer, Berlin, str. 99-131
25. Bashir K, Inoue H, Nagasaka S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK (2006) Cloning and characterization of deoxymugineic acid synthase genes from graminaceous plants. *J Biol Chem* 281: 32395-32402
26. Rellan-Alvarez R, Abadia J, Alvarez-Fernandez A (2008) Formation of metal-nicotianamine complexes as affected by pH, ligand exchange with citrate and metal exchange. A study by electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 22: 1553-1562
27. Negishi T, Nakanishi H, Yazaki J, Kishimoto N, Fujii F, Shimbo K, Yamamoto K, Sakata K, Sasaki T, Kikuchi S, Mori S, Nishizawa NK (2002) cDNA microarray analysis of gene expression during Fe-deficiency stress in barley suggests that polar transport of vesicles is implicated in phytosiderophore secretion in Fe-deficient barley roots. *Plant J* 30: 83-94
28. Nozoye T, Nagasaka S, Bashir K, Takahashi M, Kobayashi T, Nakanishi H, Nishizawa NK (2014) Nicotianamine synthase 2 localizes to the vesicles of iron-deficient rice roots, and its mutation in the YXXphi or LL motif causes the disruption of vesicle formation or movement in rice. *Plant J* 77: 246-260
29. Nozoye T, Nagasaka S, Kobayashi T, Takahashi M, Sato Y, Sato Y, Uozumi N, Nakanishi H, Nishizawa NK (2011) Phytosiderophore efflux transporters are crucial for iron acquisition in graminaceous plants. *J Biol Chem* 286: 5446-5454
30. Curie C, Panaviene Z, Loulergue C, Dellaporta SL, Briat JF, Walker EL (2001) Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake. *Nature* 409: 346-349
31. DiDonato RJ, Roberts LA, Sanderson T, Easley RB, Walker EL (2004) Arabidopsis Yellow Stripe-Like2 (YSL2): A metal-regulated gene encoding a plasma membrane transporter of nicotianamine-metal complexes. *Plant J* 39: 403-414
32. Le Jean M, Schikora A, Mari S, Briat J-F, Curie C (2005) A loss-of-function mutation in AtYSL1 reveals its role in iron and nicotianamine seed loading. *Plant J* 44: 769-782.
33. Koike S, Inoue H, Mizuno D, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK (2004) OsYSL2 is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem. *Plant J* 39: 415-424
34. Inoue H, Kobayashi T, Nozoye T, Takahashi M, Kakei Y, Suzuki K, Nakazono M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK (2009) Rice OsYSL15 is an iron-regulated iron(III)-deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings. *J Biol Chem* 284: 3470-3479
35. Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, Suzuki K, Nakazono M, Kobayashi T, Wada Y, Watanabe S, Matsuhashi S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK (2006) Rice plants take up iron as an Fe<sup>3+</sup>-phytosiderophore and as Fe<sup>2+</sup>. *Plant J* 45: 335-346
36. Durrett TP, Gassmann W, Rogers EE (2007) The FRD3-mediated efflux of citrate into the root vasculature is necessary for efficient iron translocation. *Plant Physiol* 144: 197-205
37. Rogers EE, Guerinot ML (2002) FRD3, a member of the multidrug and toxin efflux family, controls iron deficiency responses in Arabidopsis. *Plant Cell* 14: 1787-1799
38. Yokosho K, Yamaji N, Ueno D, Mitani N, Ma JF (2009) OsFRDL1 is a citrate transporter required for efficient translocation of iron in rice. *Plant Physiol* 149: 297-305
39. Morrissey J, Baxter IR, Lee J, Li L, Lahner B, Grotz N, Kaplan J, Salt DE, Guerinot ML (2009) The Ferroportin Metal Efflux Proteins Function in Iron and Cobalt Homeostasis in Arabidopsis. *Plant Cell* 21: 3326-3338
40. Waters BM, Chu H-H, DiDonato RJ, Roberts LA, Easley RB, Lahner B, Salt DE, Walker EL (2006) Mutations in Arabidopsis yellow stripe-like1 and yellow stripe-like3 reveal their roles in metal ion homeostasis and loading of metal ions in seeds. *Plant Physiol* 141: 1446-1458
41. Abundis C (2016) Iron signaling in arabidopsis thaliana. [http://scholarworks.umass.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1441&context=masters\\_theses\\_2](http://scholarworks.umass.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1441&context=masters_theses_2)
42. Curie C, Alonso JM, Le Jean M, Ecker JR, Briat JF (2000) Involvement of NRAMP1 from Arabidopsis thaliana in iron transport. *Biochem J* 347: 749-755
43. Thomine S, Wang R, Ward JM, Crawford NM, Schroeder JI (2000) Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in Arabidopsis with homology to Nramp genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 4991-4996
44. Lanquar V, Lelièvre F, Bolte S, Hamès C, Alcon C, Neumann D, Vansuyt G, Curie C, Schröder A, Krämer U, Barbier-Brygoo H, Thomine S (2005) Mobilization of vacuolar iron by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is essential for seed germination on low iron. *EMBO J* 24: 4041-4051
45. Oomen RJFJ, Wu J, Lelievre F, Blanchet S, Richaud P, Barbier-Brygoo H, Aarts MGM, Thomine S (2009) Functional characterization of NRAMP3 and NRAMP4 from the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytol* 181: 637-650
46. Kim SA, Punshon T, Lanzirotti A, Li L, Alonso JM, Ecker JR, Kaplan J, Guerinot ML (2006) Localization of iron in arabidopsis seed requires the vacuolar membrane transporter VIT1. *Science* 314: 1295-1298
47. Li L, Chen OS, McVey Ward D, Kaplan J (2001) CCC1 is a transporter that mediates vacuolar iron storage in yeast. *J Biol Chem* 276: 29515-29519
48. Duy D, Wanner G, Meda AR, von Wiren N, Soll J, Philippart K (2007) PIC1, an Ancient permease in Arabidopsis chloroplasts, mediates iron transport. *Plant Cell Online* 19: 986-1006

49. Teng Y-S, Su Y, Chen L-J, Lee YJ, Hwang I, Li H (2006) Tic21 is an essential translocon component for protein translocation across the chloroplast inner envelope membrane. *Plant Cell* 18: 2247-2257
50. Divol F, Couch D, Conejero G, Roschztardt H, Mari S, Curie C (2013) The Arabidopsis YELLOW STRIPE LIKE4 and 6 Transporters Control Iron Release from the Chloroplast. *Plant Cell* 25: 1040-1055
51. Kunji ERS, Robinson AJ (2006) The conserved substrate binding site of mitochondrial carriers. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg* 1757: 1237-1248
52. Foury F, Roganti T (2002) Deletion of the mitochondrial carrier genes MRS3 and MRS4 suppresses mitochondrial iron accumulation in a yeast frataxin-deficient strain. *J Biol Chem* 277: 24475-24483
53. Shaw GC, Cope JJ, Li L, Corson K, Hersey C, Ackermann GE, Gwynn B, Lambert AJ, Wingert RA, Traver D, et al. (2006) Mitoferrin is essential for erythroid iron assimilation. *Nature* 440: 96-100
54. Metzendorf C, Wu W, Lind MI (2009) Overexpression of *Drosophila* mitoferrin in I(2)mbn cells results in dysregulation of Fer1HCH expression. *Biochem J* 421: 463-471
55. Paradkar PN, Zumbrennen KB, Paw BH, Ward DM, Kaplan J (2009) Regulation of mitochondrial iron import through differential turnover of mitoferrin 1 and mitoferrin 2. *Mol Cell Biol* 29: 1007-1016
56. Bashir K, Ishimaru Y, Nishizawa NK (2011) Identification and characterization of the major mitochondrial Fe transporter in rice. *Plant Signal Behav* 6: 1591-1593
57. Bashir K, Ishimaru Y, Shimo H, Nagasaka S, Fujimoto M, Takanashi H, Tsutsumi N, An G, Nakanishi H, Nishizawa NK (2011) The rice mitochondrial iron transporter is essential for plant growth. *Nat Commun* 2: 322
58. Jain A, Connolly EL (2013) Mitochondrial iron transport and homeostasis in plants. *Front Plant Sci* 4: 348
59. Briat J-F, Ravet K, Arnaud N, Duc C, Boucherez J, Touraine B, Cellier F, Gaymard F (2010) New insights into ferritin synthesis and function highlight a link between iron homeostasis and oxidative stress in plants. *Ann Bot* 105: 811-822
60. Briat JF, Duc C, Ravet K, Gaymard F (2010) Ferritins and iron storage in plants. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* 1800: 806-814
61. Zancani M, Peresson C, Biroccio A, Federici G, Urbani A, Murgia I, Soave C, Micali F, Vianello A, Macrì F (2004) Evidence for the presence of ferritin in plant mitochondria. *Eur J Biochem* 271: 3657-3664
62. Tarantino D, Santo N, Morandini P, Casagrande F, Braun HP, Heine-meyer J, Vigani G, Soave C, Murgia I (2010) AtFer4 ferritin is a determinant of iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana* heterotrophic cells. *J Plant Physiol* 167: 1598-1605
63. Vigani G, Tarantino D, Murgia I (2013) Mitochondrial ferritin is a functional iron-storage protein in cucumber (*Cucumis sativus*) roots. *Front Plant Sci* 4: 316
64. Arosio P, Ingrassia R, Cavadini P (2009) Ferritins: A family of molecules for iron storage, antioxidation and more. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* 1790: 589-599
65. Ravet K, Touraine B, Boucherez J, Briat J-F, Gaymard F, Cellier F (2009) Ferritins control interaction between iron homeostasis and oxidative stress in Arabidopsis. *Plant J* 57: 400-412
66. Theil EC (2012) Ferritin protein nanocages-the story. *Nanotechnol perceptions* 8: 7-16
67. Maliandi M V., Busi M V., Turowski VR, Leaden L, Araya A, Gomez-Casati DF (2011) The mitochondrial protein frataxin is essential for heme biosynthesis in plants. *FEBS J* 278: 470-481
68. Busi M V., Maliandi M V., Valdez H, Clemente M, Zabaleta EJ, Araya A, Gomez-Casati DF (2006) Deficiency of *Arabidopsis thaliana* frataxin alters activity of mitochondrial Fe-S proteins and induces oxidative stress. *Plant J* 48: 873-882
69. Babcock M, de Silva D, Oaks R, Davis-Kaplan S, Jiralerspong S, Montermini L, Pandolfo M, Kaplan J (1997) Regulation of mitochondrial iron accumulation by Yfh1p, a putative homolog of frataxin. *Science* 276: 1709-1712
70. Lesuisse E, Santos R, Matzanke BF, Knight SAB, Camadro J-M, Dancis A (2003) Iron use for haeme synthesis is under control of the yeast frataxin homologue (Yfh1). *Hum Mol Genet* 12: 879-889
71. Philpott CC (2012) Coming into view: eukaryotic iron chaperones and intracellular iron delivery. *J Biol Chem* 287: 13518-13523
72. Busi M V, Zabaleta EJ, Araya A, Gomez-Casati DF (2004) Functional and molecular characterization of the frataxin homolog from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* 576: 141-144
73. Vazzola V, Losa A, Soave C, Murgia I (2007) Knockout of frataxin gene causes embryo lethality in Arabidopsis. *FEBS Lett* 581: 667-672
74. Martin M, Colman MJR, Gómez-Casati DF, Lamattina L, Zabaleta EJ (2009) Nitric oxide accumulation is required to protect against iron-mediated oxidative stress in frataxin-deficient Arabidopsis plants. *FEBS Lett* 583: 542-548
75. Turowski VR, Busi M V., Gomez-Casati DF (2012) Structural and functional studies of the mitochondrial cysteine desulfurase from *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant* 5: 1001-1010
76. Turowski VR, Akin C, Maliandi M V, Buchensky C, Leaden L, Peralta DA, Busi M V, Araya A, Gomez-Casati DF (2015) Frataxin is localized to both the chloroplast and mitochondrion and is involved in chloroplast Fe-S protein function in Arabidopsis. *PLoS One* 10: e0141443

## Characterization of the proteins involved in the transport and storage of iron in plants

Małgorzata Nowogórska, Joanna Kundziarz, Karolina Małas✉, Angelika Jackowska, Magdalena Migocka

Department of Molecular Physiology of Plants, Institute of Experimental Biology, University of Wrocław, 6/8 Kanonia St., 50-328 Wrocław, Poland

✉e-mail: karolina.malas@uwr.edu.pl

**Key words:** iron, membrane proteins, ferritin, frataxin

### ABSTRACT

Iron is a transient metal essential for the proper growth and development of plants because as a component of the enzymes with a wide redox potential, iron contributes to the key cellular processes. During evolution, plants have developed a wide range of molecular mechanisms for the efficient control of iron homeostasis within their cells, tissues and organs. These include membrane proteins involved in the uptake, long-distance transport and intracellular distribution of iron as well as the iron-storing and iron-chelating proteins, that are involved in the protection of the plant cells from iron excess and/or ensure the proper growth and development of plants under Fe deficiency. Since iron is crucial for the functioning of plants, the proteins involved in the transport, chelation and storage of iron within plant cells are currently thoroughly studied. This work presents the current state of the art in the knowledge of these proteins and their regulatory mechanisms.