

# Uloga moonlighting proteina u odgovoru biljke na abiotički stres

---

**Frlin, Marta**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:448081>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-13**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Marta Frlin

**Uloga *moonlighting* proteina u odgovoru  
biljke na abiotički stres**

Završni rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Marta Frlin

**The role of moonlighting proteins in plant  
response to abiotic stress**

Bachelor thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularne biologije na Zavodu za molekularnu biologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Biljane Balen.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Uloga *moonlighting* proteina u odgovoru biljke na abiotički stres

Marta Frilin

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

*Moonlighting* proteini spadaju u skupinu multifunkcionalnih proteina koji obavljaju dvije ili više fiziološki važnih biokemijskih ili biofizičkih funkcija, a nisu nastali fuzijom gena ili alternativnim prekrajanjem molekule RNA. Pronađeni su u velikom broju organizama i obavljaju vrlo raznolike uloge preko kojih su uključeni u brojne procese uključujući i biljni odgovor na stres. Glicerinaldehid-3-fosfat dehidrogenaza važan je metabolički enzim uključen u glikolizu i Calvinov ciklus. Uz metaboličku ulogu sudjeluje u biljnom odgovoru na abiotički stres akumulacijom u jezgri gdje djeluje kao transkripcijski aktivator, sudjeluje u signalnom putu i ima aktivnost uracil-DNA-glikozilaze. Dehidrini su intrinzično neuređeni proteini uključeni u biljni odgovor na različite abiotičke, ali i biotičke stresne uvjete. Smatraju se i molekularnim biljezima tolerancije na abiotički stres. U reakcijama koje kataliziraju amin-oksidge stvaraju se važni metaboliti koji povezuju amin-oksidge s procesima u biljnom razvoju, interakciji s drugim organizmima i abiotičkom stresu. Multifunkcionalnost *moonlighting* proteina omogućuje povezivanje i usklađivanje različitih molekularnih puteva i procesa.

Ključne riječi: glicerinaldehid-3-fosfat dehidrogenaza, dehidrini, amin-oksidge  
(30 stranica, 1 slika, 108 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)  
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Biljana Balen

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

# The role of moonlighting proteins in plant response to abiotic stress

Marta Frlin

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Moonlighting proteins are a part of multifunctional proteins which carry out multiple physiologically relevant biochemical or biophysical functions which are not a result of gene fusions or multiple RNA splice variants. They are found in many organisms and perform diverse roles through which they participate in many processes including plant response to abiotic stress. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is an important metabolic enzyme in glycolysis and the Calvin cycle. Beside its metabolic role it is involved in plant response to abiotic stress by accumulating in nucleus and acting as a transcription activator, mediating stress signaling and having uracil-DNA glycosylase activity. Dehydrins are intrinsically disordered proteins involved in plant response to various abiotic and biotic stress conditions. They are considered as molecular markers of plant abiotic stress tolerance. Reactions catalyzed by amine oxidases produce important metabolites that link amine oxidases to processes in plant development, interaction with other organisms and abiotic stress. The multifunctionality of moonlighting proteins enables the integration and coordination of different molecular pathways and processes.

Keywords: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, dehydrins, amine oxidases  
(30 pages, 1 figure, 108 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: prof. dr. sc. Biljana Balen

# Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. <i>Moonlighting</i> proteini .....	2
2.1. Mehanizmi i regulacija multifunkcionalnosti <i>moonlighting</i> proteina .....	2
2.2. Evolucija <i>moonlighting</i> proteina .....	4
3. Abiotički stres u biljaka .....	5
4. Glicerald-3-fosfat dehidrogenaza.....	6
4.1. Metaboličke uloge .....	7
4.2. Uloge u odgovoru na abiotički stres .....	8
5. Dehidrini .....	10
5.1. Uloge u odgovoru na abiotički stres .....	11
5.2. Uloge u odgovoru na biotički stres.....	12
6. Amin-oksidge .....	14
6.1. Uloge u biljnom razvoju .....	15
6.2. Uloge u simbiozi i odgovoru na biotički stres .....	17
6.3. Uloge u odgovoru na abiotički stres .....	18
7. Zaključak.....	20
8. Literatura.....	21
9. Životopis .....	30

# 1. Uvod

Multifunkcionalni proteini su proteini koji mogu obavljati više od jedne biokemijske ili biofizičke funkcije, a obuhvaćaju više podgrupa koje nisu jasno odijeljene. Jedna od njih su i *moonlighting* proteini (Jeffery 1999). Multifunkcionalni proteini su vrlo važni jer doprinose složenosti i robusnosti organizma pa tako u slučaju redukcije genoma mogu pružiti veću funkcionalnost smanjenom i ograničenom setu gena. Također, imaju veliku ulogu i u koordiniranju različitih bioloških procesa, što je posebno važno kod organizama s velikim genomom i složenim metaboličkim i regulatornim putevima (Espinosa-Cantú i sur. 2020). *Moonlighting* proteini mogu obavljati niz različitih funkcija i tako sudjelovati u brojnim biološkim procesima uključujući i biljni odgovor na abiotički stres.



## 2. *Moonlighting* proteini

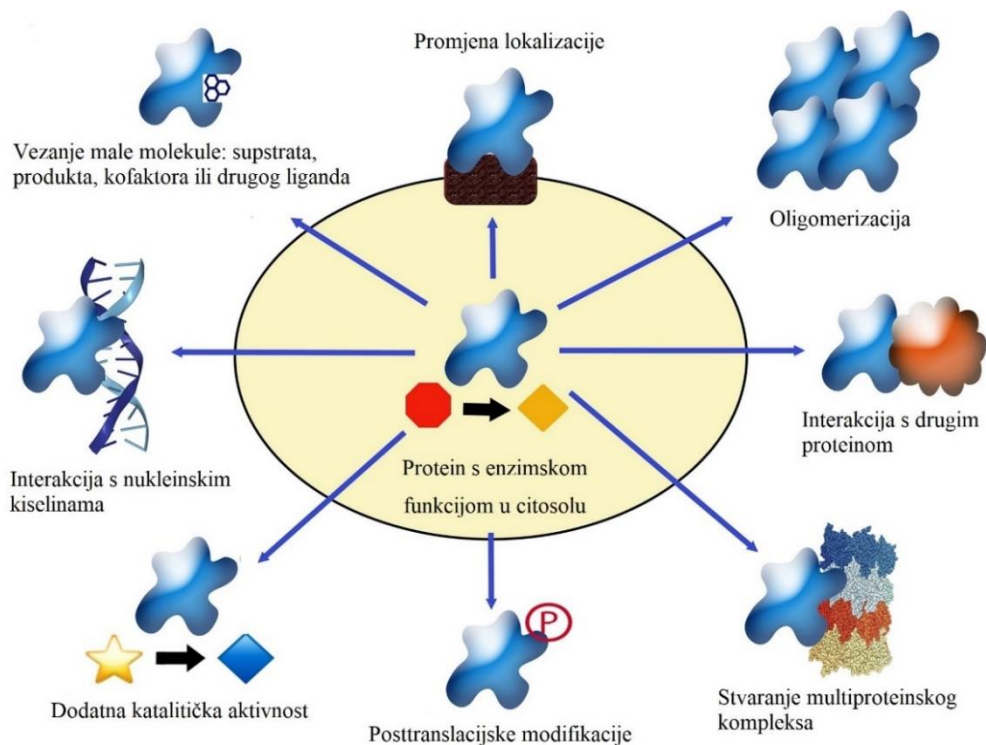
*Moonlighting* proteini su proteini u kojima jedan polipeptidni lanac obavlja više fiziološki važnih funkcija, uz izuzetak proteina nastalih fuzijom gena ili alternativnim prekrajanjem molekule RNA, homolognih, ali ne potpuno identičnih proteina i proteina koji obavljaju samo jednu funkciju, ali u različitim staničnim odjeljcima ili uz različite supstrate (Jeffery 1999). Broj otkrivenih *moonlighting* proteina stalno raste i do sada ih je opisano preko 500 (Chen i sur. 2021). Pokazano je da su sveprisutni i mogu obavljati različite funkcije. Pronađeni su u bakterijama, arhejama, virusima, sisavcima, gmazovima, pticama, ribama, kukcima, gljivama, biljkama i mnogim drugim organizmima (Jeffery 2018). Velik broj poznatih proteina ima *moonlighting* aktivnost, što dokazuje istraživanje na kvascu *Saccharomyces cerevisiae*. Fenotip nastao delecijom čak trećine istraživanih enzima mogao je biti spašen katalitički inaktivnim proteinima, što ukazuje da ti enzimi imaju dodatne nekatalitičke funkcije (Espinosa-Cantú i sur. 2018).

### 2.1. Mehanizmi i regulacija multifunkcionalnosti *moonlighting* proteina

*Moonlighting* proteini mogu obavljati dvije ili više fiziološki važnih funkcija, a kombinacije funkcija koje obavljaju mogu biti razne. *Moonlighting* funkcije su uglavnom nepovezane i međusobno neovisne, tako da inaktivacija jedne ne utječe na drugu (Huberts i van der Klei 2010). *Moonlighting* proteini mogu imati dvije enzimске aktivnosti, kombinaciju katalitičke i nekatalitičke ili dvije nekatalitičke aktivnosti. Čest primjer su topivi enzimi koji se također mogu vezati na molekule DNA ili RNA i regulirati transkripciju ili translaciju te tako mehanizmom povratne sprege regulirati razinu ekspresije enzima u istom biokemijskom putu. Na primjer, superoksid-dismutaza važan je enzim u regulaciji količine reaktivnih oblika kisika (eng. *reactive oxygen species*, ROS), a u kvasaca djeluje i kao transkripcijski faktor za gene uključene u odgovor na oksidacijski stres (Rodríguez-Saavedra i sur. 2021). Druga funkcija nekih enzima je strukturna. U različitim vrstama različiti enzimi imaju dodatnu ulogu kao strukturni proteini leće oka. Protein delta2 kristalin iz leće oka patke isti je protein kao i važan enzim ciklusa ureje arginosukcinat-lijaza, a epsilon kristalin u ptica i reptila je zapravo enzim laktat-dehidrogenaza

(Jeffery 2017). Drugi primjeri su citosolni enzimi koji imaju dodatne funkcije kao citokini, šaperoni, komponente citoskeleta i adhezini, ribosomalni proteini koji djeluju kao translacijski faktori i DNA-vezujući proteini koji mogu biti komponente izvanstaničnog matriksa (Jeffery 2015).

Regulacija *moonlighting* proteina je složena. Vrlo je važna razina ekspresije i aktivnosti proteina, stanična lokalizacija, ali i vremenski i prostorni okvir ekspresije. Također, važno je uskladiti svaku od uloga *moonlighting* proteina. Neki *moonlighting* proteini obavljaju više funkcija istodobno, kod nekih je svaka funkcija zasebno regulirana, a neki izmjenjuju funkcije (Jeffery 2018). Postoji više načina kako dolazi do izmjene funkcija. Prvi od njih je promjena lokalizacije. *Moonlighting* funkcije se mogu izmijeniti kao posljedica promjene lokalizacije proteina unutar stanice, npr. translokacije citosolnog proteina u stanične odjeljke, ili izlaska unutarstaničnog proteina izvan stanice. Razlike u ekspresiji proteina i koncentraciji liganda ili supstrata, interakcija s drugim proteinima ili nukleinskim kiselinama, oligomerizacija i stvaranje multiproteinskih kompleksa, promjena konformacije ili posttranslacijske modifikacije isto tako mogu dovesti do promjene funkcije (Slika 1.; Jeffery 1999, Rodríguez-Saavedra i sur. 2021). *Moonlighting* proteini često kombiniraju više mehanizama koji dovode do izmjene funkcija.



**Slika 1.** Mehanizmi multifunktionalnosti *moonlighting* proteina. Preuzeto i prilagođeno iz rada Jeffery (2019).

## 2.2. Evolucija *moonlighting* proteina

Smatra se da su *moonlighting* proteini nastali tako da su se neutralni funkcionalni noviteti pojavili na već postojećim proteinima i s vremenom doveli do biokemijske prednosti. Pritom je potrebno zadržati prvotnu funkciju i premostiti često negativni utjecaj mutacija. U tome pomažu neka strukturalna svojstva proteina, kao što su fleksibilnost neuređenih dijelova proteina i modularnost (Espinosa-Cantú i sur. 2015). Mutacijska robusnost isto stvara prostor za evoluciju i povećava mogućnost nastanka *moonlighting* proteina. Njoj doprinosi duplikacija gena kao glavni pokretač evolucije novih bioloških funkcija. Podjela pojedine funkcije na dva gena ili proteinske domene omogućuje da se jedan modul, bio on gen ili protein, mijenja dok drugi zadržava kanonsku ulogu i time očuva fenotip i fitness. Moguće je da slučajna interakcija proteina s novim proteinom ili nukleinskim kiselinama pozitivno doprinosi fitnessu organizma i tako dovodi do nastanka *moonlighting* proteina. Unutrašnjost stanice je vrlo dinamična i puna potencijalnih interakcija, a promjena lokalizacije ili ekspresije omogućuje dodatne interakcije s brojnim novim molekulama (Singh i Bhalla 2020). Do promjene u razini ili prostorno-vremenskom kontekstu ekspresije može doći i mutacijama u regulatornim sljedovima, npr. promotoru i tako dovesti do nastanka nove funkcije (Espinosa-Cantú i sur. 2015).

### 3. Abiotički stres u biljaka

Biljke su sesilni organizmi i kao takve su stalno izložene promjenjivim okolišnim uvjetima koji mogu različito utjecati na njih. Velik broj okolišnih čimbenika može imati negativan utjecaj na biljni rast i razvoj i izazvati stres u biljci. Prisustvo stresnih čimbenika uzrokuje promjene u biokemijskim i fiziološkim procesima i remeti biljni metabolizam čime dovodi do smanjenja fitnesa i produktivnosti (Rejeb i sur. 2014). Stresni uvjeti dijele se na biotičke i abiotičke. Biotički stresni uvjeti uzrokovani su drugim organizmima, dok su abiotički uzrokovani fizikalnim i kemijskim čimbenicima u okolišu. Druge biljke mogu imati negativan utjecaj preko konkurencije i alelopatije ili parazitizma. Biotički uvjeti obuhvaćaju i stres uzrokovan konzumentima (insekti i druge životinje) i patogenim organizmima (virusi, bakterije, gljive, oblici, parazitske biljke) (Suzuki i sur. 2014). S druge strane, abiotički uvjeti obuhvaćaju niske i visoke temperature, nedostatak ili suvišak vode, visoki salinitet, teške metale, UV zračenje te mnoge druge (He i sur. 2018). Biljke imaju brojne mehanizme pomoću kojih mogu „osjetiti“ promjene u okolišu i odgovoriti na stresne uvjete na način da smanje negativan utjecaj stresnog čimbenika, ali pritom i maksimalno sačuvaju energiju i resurse potrebne za rast i razvoj. Njihove prilagodbe temelje se na izbjegavanju ili toleriranju negativnog učinka stresnog čimbenika (Atkinson i sur. 2012, He i sur. 2018). Odgovor na stres je često složen i uključuje puno procesa; percepciju i prijenos signala, transkripciju i procesiranje transkripta, translaciju i posttranslacijske modifikacije proteina (Zhang i sur. 2022).

## 4. Glicerald-3-fosfat dehidrogenaza

Glicerald-3-fosfat dehidrogenaza (GAPDH) jedan je od enzima u glikolizi pronađen u organizmima svih carstava (Zhang i sur. 2017). Životinje uglavnom imaju samo jednu, a biljke veći broj izoformi enzima GAPDH lokaliziranih u različitim staničnim odjeljcima, koje kodiraju različiti tipovi gena (*gapA*, *gapB*, *gapC* i *gapCp*). Geni *gapC* i *gapCp* kodiraju podjedinice glikolitičkih izoformi koje djeluju u citoplazmi (GAPC) ili plastidima (GAPCp; Petersen i sur. 2003). Geni *gapA* i *gapB* kodiraju dva izozima koji u kloroplastima sudjeluju u Calvinovom ciklusu, a to su heterotetramer  $A_2B_2$ - i homotetramer  $A_4$ -GAPDH (Michelet i sur. 2013). Ovisno o biljnoj vrsti ovi tipovi gena mogu biti duplicirani. Sve ove izoforme nazivaju se fosforilirajuće GAPDH jer u uvjetima *in vitro* kataliziraju reakciju fosforilacije, ali izoforme GAPDH koje sudjeluju u Calvinovom ciklusu u fiziološkim uvjetima kataliziraju suprotnu reakciju defosforilacije supstrata (Zaffagnini i sur. 2013). U citoplazmi biljaka nalazi se i nefosforilirajuća izoforma GAPDH, ali ona funkcionalno i strukturno nije povezana s fosforilirajućim izoformama GAPDH (Michels i sur. 1994, Rius i sur. 2006).

U aktivnom mjestu ovaj enzim ima visoko očuvani cistein koji je osjetljiv na vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ) i služi kao senzor redoks signala (Hildebrandt i sur. 2015). Tiolna skupina cisteina u reakciji s  $H_2O_2$  ili molekulama povezanim s dušikovim oksidom prolazi reverzibilne redoks posttranslacijske modifikacije (Yang i Zhai 2017). Ove redoks modifikacije katalitičkog cisteina blokiraju katalitičku aktivnost enzima GAPDH i utječu na njegovu staničnu lokalizaciju i interakciju s drugim proteinima (Zaffagnini i sur. 2013). I animalne i biljne glikolitičke izoforme GAPDH mogu se naći u citoplazmi i jezgri, a različiti stresni čimbenici potiču lokalizaciju u jezgru (Wawer i sur. 2010, Vescovi i sur. 2013). Animalni protein GAPDH uz ulogu u glikolizi ima brojne *moonlighting* funkcije u popravku molekule DNA, kontroli genske ekspresije, membranskoj fuziji i transportu, dinamici citoskeleta, autofagiji i apoptozi (Colell i sur. 2007 i 2009, Tristani i sur. 2011). Biljne izoforme GAPDH, uz metaboličke uloge, reguliraju omjer  $NAD(P)^+$  i  $NAD(P)H$ , utječu na redoks stanje stanice i sudjeluju u biljnom odgovoru na abiotički stres. *Moonlighting* aktivnost metaboličkih enzima kao što je protein GAPDH služi kao poveznica staničnog metabolizma i regulacije, pri čemu njegova osjetljivost na redoks stanje stanice omogućuje dodatnu preciznost u regulaciji fizioloških metaboličkih aktivnosti i odgovora na stresne uvjete (Zaffagnini i sur. 2013, Hildebrandt i sur. 2015).

## 4.1. Metaboličke uloge

Glikoliza je jedan od ključnih metaboličkih procesa. Služi za razgradnju ugljikohidrata, čime se stvaraju intermedijeri potrebni za dobivanje energije i sintezu masnih kiselina, aminokiselina, hormona i osmolita (Kim i sur. 2020). Enzim GAPDH u procesu glikolize katalizira pretvorbu gliceraldehid-3-fosfata u 1,3-bisfosfoglicerat pri čemu nastaje i NADH, u prisustvu  $\text{NAD}^+$  i anorganskog fosfata (Zaffagnini i sur. 2013). Ovaj visokoenergetski intermedijer se dalje metabolizira u reakciji kataliziranoj fosfoglicerat-kinazom i nastaje energetska valuta stanice, adenzin trifosfat (eng. *adenosine triphosphate*, ATP; Piattoni i sur. 2017). Katalitički cistein u aktivnom mjestu proteina GAPDH uključen je u kovalentnu katalizu. Njegova oksidacija u uvjetima oksidacijskog stresa služi metaboličkom preusmjeravanju toka ugljika iz glikolitičkog puta u put pentoza fosfata, što dovodi do povećanja količine NADPH (Hildebrandt i sur. 2015). Nefosforilirajuća izoforma GAPDH u citosolu biljnih stanica katalizira reakciju direktne oksidacije gliceraldehid-3-fosfata u 3-fosfoglicerat, zbog čega u sljedećem koraku ne nastaje ATP. S obzirom da je nefosforilirajuća izoforma GAPDH znatno manje osjetljiva na oksidacijsku modifikaciju, i samim time katalitičku inaktivaciju, smatra se da je uključena u stvaranje NADPH u uvjetima oksidacijskog stresa kada dolazi do inaktivacije izoformi GAPC (Piattoni i sur. 2013, Hildebrandt i sur. 2015).

Kloroplastna izoforma GAPDH sudjeluje u fotosintezi u Calvinovom ciklusu. Uključena je u asimilaciju ugljikovog dioksida kroz reakciju redukcije 3-fosfoglicerata u gliceraldehid-3-fosfat preko 1,3-bisfosfoglicerata uz utrošak NADPH. Aktivnost ovog enzima regulirana je svjetlošću preko sustava feredoksin-tioredoksin. Enzim GAPDH se tijekom katalize oksidira stvaranjem disulfidnog mosta, što dovodi do inaktivacije enzima. Na svjetlosti sustav feredoksin-tioredoksin stalno reducira enzim i tako ga održava aktivnim (Baalman i sur. 1995, Hildebrandt i sur. 2015). Metaboliti u stanici sudjeluju u redukciji i tako ovaj ciklus redoks reakcija služi kao precizna regulacija aktivnosti enzima GAPDH na svjetlu (Scheibe 1990).

## 4.2. Uloge u odgovoru na abiotički stres

Istraživanja pokazuju kako je biljna izoforma GAPC uključena u odgovor na brojne stresne čimbenike uključujući teške metale poput kadmija, hladnoću i povišenu temperaturu kroz regulaciju količine ROS i sudjelovanje u signalnom putu posredovanom fosfatidnom kiselinom (Kim i sur. 2013, Vescovi i sur. 2013, Liu i sur. 2017, Kim i sur. 2020). Jedan od načina kako protein GAPC sudjeluje u odgovoru biljke na abiotički stres je njegova akumulacija u jezgri. U stresnim uvjetima dolazi do tiolne modifikacije katalitičkog cisteina proteina GAPC, na primjer S-nitrozilacije, S-sulfhidracije i S-glutationilacije, a nekoliko lizina istog proteina može biti acetilirano ili ubikvitinirano. Pretpostavlja se da ove posttranslacijske modifikacije određuju translokaciju u jezgru kao odgovor na stresne uvjete, ali različiti izvanstanični podražaji i unutarstanični signali izazivaju različite kombinacije modifikacija i univerzalni signal za sada nije određen (Kim i sur. 2020).

Tretman klijanaca uročnjaka kadmijem izaziva oksidacijski stres i povećanje količine dušikovog oksida u citoplazmi stanica korijena. Ovo dovodi do promjene u redoks stanju stanice i oksidacije brojnih molekula, uključujući i izoformu GAPC, što uzrokuje njezinu inaktivaciju. Istovremeno, primijećena je aktivacija promotora GAPC i nakupljanje katalitički inaktivnog enzima u jezgri (Vescovi i sur. 2013).

U biljkama riže glikolitička izoforma GAPDH djeluje i kao transkripcijski aktivator gena za proteine uključene u glikolizu. Pokazano je da stresni uvjeti izazivaju povećanje ekspresije gena uključenih u glikolizu i fermentaciju pa je moguće da je za povećanje odgovorna akumulacija enzima GAPDH u jezgri tijekom stresa (Zhang i sur. 2017). Također je primijećeno da se GAPC iz uročnjaka veže na gen za NADP-ovisnu malat-dehidrogenazu i da isti enzim u biljkama duhana ostvaruje interakcije s nukleinskim kiselinama (Holtgreffe i sur. 2008, Testard i sur. 2016).

Toplinski stres u biljkama uročnjaka dovodi do translokacije dijela proteina GAPC u jezgru gdje poprima ulogu transkripcijskog aktivatora gena uključenih u odgovor na toplinski stres. Kroz direktnu protein-protein interakciju s podjedinicom C10 nuklearnog faktora Y (NF-YC10) protein GAPC modulira odgovor biljke na povišenu temperaturu. Protein NF-YC10 regulira ekspresiju gena uključenih u odgovor na toplinski stres i njegova nadeskresija dovodi do povećane otpornosti uročnjaka na povišenu temperaturu. Interakcija proteina NF-YC10 s izoformom GAPC povećava

njegovu DNA-vezujuću aktivnost pa se on snažnije veže za ciljne promotore i dovodi do povećane ekspresije gena uključenih u odgovor na toplinski stres (Kim i sur. 2020).

Iako enzim GAPDH ima ulogu u specifičnom odgovoru na povišenu temperaturu, sudjeluje i u nespecifičnom odgovoru na stres. Većina stresnih uvjeta dovodi do pojave oksidacijskog stresa u stanici, a zbog svoje osjetljivosti na oksidacijske modifikacije protein GAPDH ima ulogu senzora redoks stanja stanice i posrednika u provođenju tog signala (Hildebrandt i sur. 2015). Istraživanje na uročnjaku pokazuje kako  $H_2O_2$  inhibira aktivnost enzima GAPC, ali potiče njezinu interakciju s fosfolipazom D $\delta$ . Fosfolipaza D $\delta$  je protein povezan sa staničnom membranom i hidrolizira fosfolipide, čime nastaje fosfatidna kiselina. Fosfatidna kiselina je važan sekundarni glasnik i potiče zatvaranje puči u odgovoru na apscizinsku kiselinu. Interakcija proteina GAPC i fosfolipaze D $\delta$  povećava njezinu aktivnost. Stoga, inaktivacija proteina GAPC i interakcija s fosfolipazom D $\delta$  uzrokovana povećanjem količine  $H_2O_2$  prenosi redoks signal na fosfolipazu D $\delta$ . Aktivacija fosfolipaze D $\delta$  potiče zatvaranje puči kroz stvaranje fosfatidne kiseline. Ovaj proces je posebno važan u odgovoru na stres uzrokovan manjkom vode i pokazuje direktnu poveznicu provođenja signala posredovanog lipidima, metabolizma i regulacije u odgovoru na oksidacijski stres i manjak vode (Guo i sur. 2012).

Kloroplastna izoforma GAPDH iz graška ima aktivnost uracil-DNA-glikozilaze (Wang i sur. 1999). Ovom aktivnošću uklanja se uracil iz molekula DNA pa je važna u očuvanju integriteta molekule DNA i sprječavanju mutageneze. Moguće je i da izoforma GAPC akumulirana u jezgri obavlja ovu funkciju i tako štiti molekulu DNA od oksidacijskog oštećenja (Zaffagnini i sur. 2013).



## 5. Dehidrini

Proteini kasne embriogeneze (eng. *late embryogenesis abundant*, LEA) akumuliraju se u biljnim stanicama tijekom sazrijevanja sjemenke, u odgovoru na određene stresne uvjete i tretman apscizinskom kiselinom. U fiziološkim uvjetima ih u vegetativnim tkivima ima u zanemarivoj količini, a prisutni su u mladim organima i onima koja se brzo dijele ili izdužuju, na primjer u vršku korijena i stabljikama i peteljka koje se izdužuju (Rorat i sur. 2004). Isušivanje je normalan proces tijekom sazrijevanja sjemenke, a regulira ga apscizinska kiselina. Stresni uvjeti koji induciraju ekspresiju proteina LEA su suša, snižena i povišena temperatura i povišeni salinitet. Svi ovi čimbenici u biljnoj stanici izazivaju manjak vode (Allagulova i sur. 2003). Dehidrini predstavljaju skupinu II proteina LEA. Sadrže nekoliko očuvanih sekvenca: Y-, S-, F- i K-segmente u različitim kombinacijama (Close 1996, Richard Strimbeck 2017). K-segment se nalazi u svim dehidrinima, u jednoj do 11 kopija i bogat je lizinima. Dehidrini su termostabilni i zadržavaju integritet do 100 °C (Allagulova i sur. 2003).

Dehidrini su intrinzično neuređeni proteini. U vodenim otopinama zauzimaju konformaciju nasumičnog klupka, odnosno stvaraju velik broj vodikovih veza s okolnim molekulama vode, a vrlo mali broj unutarmolekulskih vodikovih veza (Tompa i sur. 2005). Sadrže velik udio polarnih i nabijenih aminokiselina i vrlo su hidrofilni. Ovisno o promjenama u okolini mijenja im se konformacija (Hanin i sur. 2011). U uvjetima manjka vode ili dodatkom tvari kao što su glicerol, natrijev dodecil sulfat ili soli dolazi do uređenja strukture i K-segment poprima konformaciju  $\alpha$ -zavojnice. Za zavojnice sličnih konformacija pokazano je da ostvaruju interakciju s lipidima membrana i stabiliziraju ih u uvjetima suše (Davidson i sur. 1998). Ovakve amfipatske zavojnice imaju negativno nabijene aminokiseline na jednoj strani zavojnice, hidrofobne aminokiseline na drugoj strani, a pozitivno nabijene aminokiseline nalaze se na granici polarnog i nepolarnog (Banerjee i Roychoudhury 2016). Interakcija s drugim molekulama također dovodi do promjena u sekundarnoj strukturi dehidrina. Vezanje anionskih fosfolipida na dehidrin DHN1 u biljkama kukuruza i cinkovih iona na dehidrin CuCOR15 iz mandarine Unshiu dovodi do stvaranja zavojnica u dehidrinima (Koag i sur. 2009, Hara i sur. 2009). Promjene sekundarne strukture iz neuređenog u uređeno stanje dehidrina temelj su njihove fleksibilnosti i *moonlighting* aktivnosti. Dehidrini imaju zaštitnu ulogu tijekom dehidracije, ali točni mehanizmi kojima doprinose toleranciji na stres nisu poznati (Hanin i sur. 2011).

## 5.1. Uloge u odgovoru na abiotički stres

Velik broj komparativnih analiza na varijetetima i kultivarima s različitom osjetljivošću na stres pokazuje pozitivnu korelaciju između ekspresije dehidrina i tolerancije na stres. U linijama biljaka otpornijim na hladnoću, smrzavanje, isušivanje i povećani salinitet ekspresija dehidrina je puno veća. Stoga se dehidrini mogu smatrati molekularnim biljezima tolerancije na abiotički stres (Hanin i sur. 2011).

Za mnoge dehidrine pokazano je da imaju ulogu u sprječavanju denaturacije proteina i očuvanju njihove strukture i aktivnosti. Pri povišenim temperaturama dehidrini ERD10 i ERD14 iz uročnjaka sprječavaju agregaciju citrat-sintaze i luciferaze i inaktivaciju lizozima i alkohol-dehidrogenaze. Dehidrin ERD10 ima zaštitnu ulogu i u uvjetima dehidracije jer sprječava redukciju laktat-dehidrogenaze (Kovacs i sur. 2008). Dehidrin DHN-5 iz pšenice povećava aktivnost i termostabilnost  $\beta$ -glukozidaze i glukoza-oksidge u uvjetima *in vitro* (Brini i sur. 2011). Brojni dehidrini imaju i krioprotektivnu ulogu, uključujući i dehidrin ERD10 koji sprječava inaktivaciju laktat-dehidrogenaze i prilikom smrzavanja. Za krioprotektivna svojstva vjerojatno je ključan K-segment (Hara 2010). Tolerancija biljaka na hladnoću ovisi i o nakupljanju škroba kao izvora mono- i disaharida.  $\alpha$ -amilaza razgrađuje škrob pa je njezina aktivnost vrlo važna u toleranciji na hladnoću. Aklimatizaciju klijanaca breze prati akumulacija dehidrina u amiloplastima. U uvjetima *in vitro* dokazano je da ovaj dehidrin sudjeluje u održavanju katalitičke aktivnosti  $\alpha$ -amilaze. Moguće je da dehidrini održavaju odgovarajuću koncentraciju vode oko enzima, što je važan uvjet za stvaranje kompleksa enzim-supstrat i samim time hidrolizu škroba (Allagulova i sur. 2003). U stresnim uvjetima dehidrini djeluju poput šaperona. Točan mehanizam nije potvrđen, ali moguće je da dehidrini uređuju molekule vode oko makromolekula i tako sprječavaju izlaganje hidrofobnih domena otapalu. Pri još većem nedostatku vode moguće je da dehidrini stupaju u direktnu interakciju s proteinima kako bi zamijenili površinsku vodu i tako sprječavaju strukturne promjene proteina (Hara 2010).

Pokazano je i da neki dehidrini mogu ostvariti interakcije s membranom. Dehidrini DHN1 iz kukuruza i ERD10 i ERD14 iz uročnjaka mogu se vezati na vezikule koje sadrže kisele fosfolipide (Koag i sur. 2003, Kovacs i sur. 2008). Prisutnost dehidrina u membrani snižava temperaturu mekšanja, što omogućuje zadržavanje fluidnosti i funkcije membrane pri nižim temperaturama (Smith i Graether 2022). Dehidrini imaju ulogu u zaštiti membrana i u uvjetima dehidracije.

Manjak vode uzrokuje narušavanje hidratacijskih omotača makromolekula, zbog čega dolazi do smanjenja udaljenosti između lipidnog dvosloja. Smanjenje udaljenosti omogućuje izmjenu komponenti, narušava strukturu i permeabilnost membrana. Interakcija dehidrina i membranskih makromolekula s narušenim hidratacijskim omotačima štiti membrane (Allagulova i sur. 2003).

Bionformatičkom analizom je utvrđeno kako je potencijalna uloga dehidrina vezanje molekule DNA (Wise i Tunnacliffe 2004). Interakcija s nukleinskim kiselinama dokazana je za dehidrine CuCOR15 iz mandarine Unshiu i VrDhn1 iz mungo graha. Oba dehidrina se nespecifično vežu na nukleinske kiseline. Vezanje proteina CuCOR15 ovisi o ionima cinka (Hara i sur. 2009), a u slučaju dehidrina VrDhn1 ioni cinka i nikla potiču interakciju (Lin i sur. 2012). Lokalizacija dehidrina u jezgri povezana je sa zaštitom transkripcijske mašinerije u nepovoljnim uvjetima. Dehidrin p16 iz embrija graška izoliran je iz frakcije histona H3 pa je moguće da služi održavanju strukturnog integriteta kromatina u uvjetima dehidracije tijekom sazrijevanja sjemenke (Castillo i sur. 2002).

U fiziološkim uvjetima većina iona metala stvara komplekse s proteinima. U stresnim uvjetima se otpuštaju i kao slobodni ioni mogu katalizirati stvaranje ROS i inducirati oksidacijski stres (Mittler 2002). Dehidrini koji sadrže puno histidina, arginina i drugih reaktivnih aminokiselina sudjeluju u uklanjanju ROS i vezanju metalnih iona. U interakciji s ROS aminokiselinski bočni ogranak se oksidira, dok se u interakciji s ionima metala stvara kovalentna veza. Dehidrini tako djeluju kao antioksidansi i sudjeluju u uklanjanju iona metala i njihovom transportu (Hanin i sur. 2011).

## 5.2. Uloge u odgovoru na biotički stres

Analiza transkriptoma kod uročnjaka pokazala je da nadekspresija dehidrina DHN-5 dovodi do povećanja ekspresije ne samo gena uključenih u odgovor na abiotički stres, već i nekoliko gena za proteine povezane s patogeneom (eng. *pathogenesis-related*, PR). PR proteini su uključeni u obrambeni odgovor na biotički stres. Također je primijećeno da protein DHN-5 ima utjecaj na prijenos signala posredovan jasmonskom kiselinom tako što smanjuje ekspresiju negativnih regulatora ovog signalnog puta (Brini i sur. 2011). S obzirom da jasmonska kiselina ima ključnu

ulogu u zaštiti od patogena, moguće je da dehidrin DHN-5 utječe na otpornost biljaka na napad patogena (Hanin i sur. 2011).

Neki dehidrini posjeduju i antibakterijska svojstva. Dehidrin ERD10 iz uročnjaka može inhibirati rast bakterije *Escherichia coli*, a protein RR46 iz riže uz inhibiciju rasta *E. coli* inhibira i rast nekih Gram pozitivnih bakterija (Campos i sur. 2006). Antibakterijska svojstva dehidrina vjerojatno potječu od K-segmenta. Sintetski K-segmenti također pokazuju inhibitorni učinak na rast nekih Gram pozitivnih bakterija. Moguće je da K-segmenti mogu poprimiti transmembransku strukturu poput drugih antimikrobnih peptida. Takva struktura im omogućuje interakciju s membranom bakterija i tako onemogućuje bakterijski rast (Zhai i sur. 2011). Antibakterijska svojstva dehidrina bi mogla doprinositi rezistenciji biljaka na patogene. S obzirom na njihovu važnost u odgovoru na abiotički stres, ali i moguću ulogu u zaštiti od patogena dehidrini predstavljaju poveznicu signalnih puteva u odgovoru na abiotički i biotički stres (Hanin i sur. 2011).

## 6. Amin-oksidge

Amin-oksidge kataliziraju reakciju oksidativne deaminacije poliamina. Dije se na amin-oksidge koje sadrže bakar (CuAO) i poliamin-oksidge koje sadrže flavin (PAO). Proteini CuAO djeluju kao homodimeri u kojima svaka podjedinica sadrži ion bakra i 2,4,5-trihidroksifenilalanin kinon kao kofaktor dobiven posttranslacijskom autokatalitičkom modifikacijom tirozina u aktivnom mjestu. Amin-oksidge CuAO iz mikroorganizama, životinja i biljaka oksidiraju diamine putrescin i kadaverin na primarnoj amino skupini. Produkti ove reakcije su odgovarajući aminoaldehid i amonijak. Amin-oksidge PAO sadrže nekovalentno vezanu molekulu flavin adenin dinukleotida kao kofaktor i kataliziraju oksidaciju spermina, spermidina i/ili njihovih acetiliranih derivata na sekundarnoj amino skupini. Produkti ovih reakcija ovise o izvoru enzima i mehanizmu reakcije. Biljni i bakterijski proteini PAO uključeni su u terminalni katabolizam poliamina, dok animalni sudjeluju u reakcijama povratne pretvorbe. Zajednički produkt svih reakcija kataliziranih amin-oksidgezama je H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Cohen 1998).

Osim što razgradnjom reguliraju stanične razine poliamina, amin-oksidge sudjeluju u brojnim fiziološkim procesima kroz reakcijske produkte. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> je uključen u sazrijevanje stanične stijenke i lignifikaciju tijekom razvoja, ali i ozljeđivanja i napada patogena. Ima važnu ulogu i kao signalna molekula u regulaciji stanične smrti, hipersenzitivnom odgovoru i ekspresiji obrambenih gena. Aminoaldehidi i 1,3-diaminopropan sudjeluju u sintezi sekundarnih metabolita i toleranciji na abiotički stres (Cona i sur. 2006). 4-aminobutanal nastao oksidacijom poliamina može biti dalje metaboliziran čime nastaje  $\gamma$ -aminomaslačna kiselina (GABA). GABA ima važnu ulogu u brojnim fiziološkim procesima, uključujući regulaciju citosolnog pH, toka ugljika u ciklusu limunske kiseline, odvrćanju insekata i zaštiti od oksidacijskog stresa. Povećano se stvara tijekom odgovora na biotički i abiotički stres (Bouché i Fromm 2004). 1,3-diaminopropan je prekursor  $\beta$ -alanina i neuobičajenih poliamina povezanih s tolerancijom na stres (Terano i Suzuki 1978, Koc i sur. 1998). Neuobičajeni poliamini uključeni su u toleranciju isušivanja u biljkama lucerne.  $\beta$ -alanin je važan zbog stvaranja  $\beta$ -alanin betaina, osmoprotektanta pronađenog u biljkama porodice *Plumbaginaceae* koje su prilagođene širokom spektru stresnih čimbenika (Hanson i sur. 1994, Raman i Rathinasabapathi 2003).

## 6.1. Uloge u biljnom razvoju

Povećana lokalizacija amin-oksidaza u tkivima gdje se događa intenzivna lignifikacija i učvršćivanje stanične stijenke ukazuje na moguću ulogu ovih enzima u biljnom razvoju kroz ove procese. Vremenska i prostorna ekspresija ovih enzima je razvojno regulirana i podliježe endogenim i okolišnim signalima kao što su hormoni i svjetlost (Laurenzi i sur. 2001). U modifikaciji stanične stijenke važnu ulogu imaju enzimi peroksidaze koji u reakcijama koriste  $H_2O_2$ . Uključeni su u biosintezu lignina i suberina, molekula ključnih za čvrstoću stanične stijenke. U biljkama duhana i slanutka primijećena je pozitivna korelacija u razinama lignina, peroksidaza i enzima CuAO, što podupire funkcionalnu povezanost ovih enzima. Također, deetioloacija i ranjavanje dovode do povećanja aktivnosti ovih enzima u biljkama slanutka (Rea i sur. 1998). Istraživanja korištenjem inhibitora također ukazuju da oksidacija poliamina ima ulogu u osiguravanju  $H_2O_2$  za aktivnost peroksidaza u unakrsnom povezivanju komponenta stanične stijenke, lignifikaciji i suberinizaciji tijekom deetioloacije i razvoja organa (Tavladoraki i sur. 2016).

U biljkama kukuruza tijekom izlaganja svjetlosti i sazrijevanja dolazi do redistribucije amin-oksidaza PAO iz citoplazme u primarnu i sekundarnu staničnu stijenku, dok se u zrelim tkivima protein nakuplja u izvanstaničnom matriksu. Moguće je da ova modulacija unutar i izvanstanične razine proteina PAO služi kako bi se zadovoljile potrebe za  $H_2O_2$  u različitim stadijima razvoja. Ravnoteža  $H_2O_2$  lokaliziranog unutar stanice ili u području stanične stijenke uključena je u regulaciju učvršćivanja stanične stijenke i brzine rasta stanica (Cona i sur. 2005).

Biokemijske, histokemijske i imunocitokemijske analize pokazale su uključenost enzima PAO u inhibiciju rasta mezokotila induciranu svjetlošću u biljkama kukuruza. Povećanje razina enzima korelira s inhibicijom produženog rasta u vršku mezokotila prilikom izlaganja svjetlosti (Laurenzi i sur. 1999).

Programirana stanična smrt dio je normalnog biljnog razvoja, a ključnu ulogu imaju ROS (De Pinto i sur. 2012). Između ostalog uključena je u razvoj traheidalnih elemenata i stanica korijenove kape. U biljkama uročnjaka i kukuruza u ovim je tipovima stanica primijećeno prisustvo značajne količine poliamin-oksidaza, što ukazuje na potencijalnu ulogu ovih proteina u razvojno reguliranoj programiranoj staničnoj smrti (Møller i McPherson 1998). Metil jasmonat u korijenu uročnjaka inducira ranu diferencijaciju ksilema uz povećanu ekspresiju amin-oksidaza CuAO,

smanjenu količinu putrescina i nakupljanje  $H_2O_2$  (Ghughe i sur. 2015a). U biljkama kukuruza nadekspresija amin-oksidaza PAO i smanjena ekspresija enzima uključenog u biosintezu poliamina potiče diferencijaciju vaskularnih stanica i programiranu staničnu smrt stanica korijenove kape. Ovi rezultati ukazuju da ravnoteža unutarstaničnog anabolizma poliamina i apoplastnog katabolizma koordinira programiranu staničnu smrt (Tisi i sur. 2011).

Poliamini i ROS nastali njihovom oksidacijom reguliraju ionske kanale u životinjama i biljkama u raznim fiziološkim procesima i odgovoru na stres kroz direktnu regulaciju transporta iona ili djelovanje sekundarnih glasnika (Pegg 2014, Pottosin i sur. 2014). Peroksisomalni enzim PAO je u biljkama uročnjaka visoko eksprimiran u stanicama peludnog zrna tijekom klijanja peludne mješine (Fincato i sur. 2012).  $H_2O_2$  nastao oksidacijom spermidina, kataliziranom ovim enzimom, izaziva otvaranje kanala za ione kalcija. Otvaranjem kanala dolazi do promjene u gradijentu iona kalcija koji ima glavnu ulogu u regulaciji produženja peludne mješine (Wu i sur. 2010).

Amin-oksidaze sudjeluju i u gibanjima puči. U bobu zatvaranje puči posredovano apscizinskom kiselinom uključuje indukciju aktivnosti apoplastnog proteina CuAO kao izvora  $H_2O_2$ . Amin-oksidaza CuAO neophodna je i za povećanje razine kalcijevih iona u citosolu kao odgovor na apscizinsku kiselinu (An i sur. 2008). U biljkama uročnjaka pokazano je da su apoplastni i peroksisomalni proteini CuAO eksprimirani u stanicama zapornicama i da peroksisomalni enzim sudjeluje u otvaranju puči posredovanom apscizinskom kiselinom (Qu i sur. 2014, Ghughe i sur. 2015b). Proteini PAO su također uključeni u kontrolu gibanja puči kod vinove loze i uročnjaka (Konstantinos i sur. 2010, Hou i sur. 2013).

Katabolizam poliamina je uključen u dozrijevanje plodova rajčice i grožđa (Agudelo-Romero i sur. 2013, Tsaniklidis i sur. 2016). Usprkos povećanoj ekspresiji enzima uključenog u biosintezu putrescina količina poliamina tijekom sazrijevanja grožđa jako je smanjena uz povećanje ekspresije nekoliko gena koji kodiraju za amin-oksidaze CuAO i PAO. Moguće je da povećana ekspresija ovih enzima služi kao izvor ROS u svrhu signalizacije ili interferira s hormonalnim putevima etilena i apscizinske kiseline (Agudelo-Romero i sur. 2013).

## 6.2. Uloge u simbiozi i odgovoru na biotički stres

Amin-oksidaza CuAO ima ulogu u simbiotskim interakcijama gdje je potrebna precizna ravnoteža poticanja i sprječavanja kolonizacije tkiva domaćina, što se često postiže modulacijom čvrstoće stanične stijenke. Tijekom interakcije mahunarki s bakterijom *Rhizobium leguminosarum* indukcija ekspresije proteina CuAO služi kao izvor H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dovodi do očvršćivanja lumena infekcijske cijevi i tako otežava penetraciju bakterija (Wisniewski i sur. 2000).

Velik broj istraživanja ukazuje na ulogu amin-oksidaza u obrambenim mehanizmima biljaka na biotički stres, uglavnom kroz stvaranje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Primijećena je različita raspodjela i ekspresijski uzorak proteina CuAO u biljkama slanutka prilikom interakcije s nekrotrofnom gljivom *Ascochyta rabiei* u osjetljivom i otpornom kultivaru, pri čemu je razina enzima bila veća u rezistentnom kultivaru. Amin-oksidaza CuAO sudjeluje u zaštiti biljaka učvršćivanjem stanične stijenke (Angelini i sur. 1993, Rea i sur. 2002). Uloga proteina CuAO u povezivanju izvanstaničnih strukturnih proteina ili ligninskih prekursora pokazana je i u uročnjaku tijekom interakcije s parazitskim oblicima (Møller i sur. 1998).

Mehaničko ranjavanje klijanaca slanutka inducira brzo povećanje ekspresije proteina CuAO, a upotreba inhibitora ovog enzima smanjuje nakupljanje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i stvaranje nakupina lignina i suberina duž lezije. Ekspresija proteina CuAO se znatno poveća nakon tretmana jasmonskom kiselinom, regulatorom rasta koji aktivira nekoliko gena kao odgovor na ranjavanje (Rea i sur. 2002). Slični rezultati dobiveni su na kukuruzu prilikom istraživanja proteina PAO (Angelini i sur. 2008).

Obrambeni mehanizmi uključuju i hipersenzitivni odgovor koji podrazumijeva aktivaciju reakcija povezanih s brzom, lokaliziranom smrću stanica domaćina. Rezistencija ostvarena na ovaj način se temelji na lišavanju biotrofa hrane i oslobađanju molekula s antimikrobnim svojstvima iz mrtvih stanica, čime se sprječava napad od strane nekrotrofnog organizma. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nastao oksidacijom poliamina doprinosi hipersenzitivnom odgovoru. U odgovoru rezistentnih biljaka duhana na zaražavanje mozaičnim virusom duhana dolazi do povećanja ekspresije amin-oksidaze CuAO uz aktivaciju hipersenzitivnog odgovora, ali ne i u osjetljivim biljkama (Marini i sur. 2001). U istim uvjetima dolazi i do povećanja ekspresije amin-oksidaze PAO u apoplastu, a upotreba inhibitora ovog enzima smanjuje hipersenzitivni odgovor (Yoda i sur. 2003). Tretman biljaka duhana sperminom uzrokuje povećanje ekspresije nekih gena uključenih u obrambeni hipersenzitivni



odgovor. Glavnu ulogu u signalnom putu imaju ROS, a inhibitori amin-oksidaza suprimiraju indukciju gena (Takahashi i sur. 2003).

Amin-oksidaze su uključene u obrambene mehanizme i putem stvaranja brojnih sekundarnih metabolita, uključujući nikotin i tropanske i piperidinske alkaloidne (Facchini 2001, Martin-Tanguy 2001). Biljni sekundarni metaboliti često služe kao obrana od patogena i herbivora negativnim utjecajem na njihovo djelovanje, preživljavanje i razmnožavanje (Steppuhn i sur. 2004).

### 6.3. Uloge u odgovoru na abiotički stres

Više istraživanja pokazuje da je odgovor biljaka na stres uzrokovan isušivanjem, povišenim salinitetom, povišenom temperaturom i osmotski stres povezan s poticajem oksidacije poliamina. Ipak, točna uloga katabolizma poliamina u odgovoru na okolišno uzrokovan stres nije potpuno jasna. Neke uloge u toleranciji na stres povezane su s produktima reakcija oksidacije,  $\gamma$ -aminomaslačnom kiselinom i  $H_2O_2$ . Primijećena je kvantitativna korelacija između razgradnje poliamina i nakupljanja GABA u korijenu soje prilikom solnog stresa. S povećanjem koncentracije soli razine putrescina, kadaverina i spermidina su se značajno smanjile, dok se aktivnost amin-oksidaze CuAO i razina GABA povećala (Xing i sur. 2007).

Apscizinska kiselina inducira ekspresiju triju gena uročnjaka koji kodiraju za amin-oksidazu PAO, zbog čega je moguće da amin-oksidaze sudjeluju u signalizaciji posredovanoj apscizinskom kiselinom u odgovoru biljaka na abiotički stres (Moschou i sur. 2008a). Pokazano je i da  $H_2O_2$  nastao oksidacijom poliamina sudjeluje u aktivaciji citosolnog antioksidacijskog sustava posredovanoj apscizinskom kiselinom u listovima kukuruza (Xue i sur. 2009).

ROS su uključeni i u mekšanje stanične stijenke čime dovode do produženog rasta. Tretman biljaka kukuruza povišenim koncentracijama soli dovodi do povećanja razine apoplastnog spermina i spermidina, ponajviše u zoni elongacije lisne plojke. ROS nastali njihovom oksidacijom pomoću enzima PAO doprinose 25-30% produženja lisne plojke (Rodríguez i sur. 2009).

Tijekom solnog stresa u biljkama uročnjaka dolazi do izlučivanja spermidina u apoplast, gdje se oksidira apoplastnom amin-oksidadom PAO, čime se stvara  $H_2O_2$  i inducira programirana stanična smrt (Moschou i sur. 2008b).

Prilikom tretmana listova rajčice natrijevim kloridom pokazana je povezanost razgradnje poliamina i nakupljanja prolina. Prolin ima višestruke uloge u biljci i njegova akumulacija je vrlo čest odgovor na stres uzrokovan nedostatkom vode ili povišenim salinitetom u višim biljkama (Aziz i sur. 1998).

Razgradnja poliamina ima ulogu i u toplinskom stresu. Povišena temperatura uzrokuje povećanje razine proteina PAO i enzima uključenog u biosintezu poliamina u kalusu riže. Ovo povećanje je veće u kalusu dobivenom iz biljke tolerantne na povišenu temperaturu nego onom dobivenom iz osjetljive biljke i podudara se s razinama poliamina. Istovremeno, razine ovih enzima koreliraju s nakupljanjem neuobičajenih poliamina u fiziološkim i stresnim uvjetima. Neuobičajeni poliamini su opaženi u kultivaru tolerantnom na povišenu temperaturu, ali ne i u osjetljivom, a razine su im značajno porasle prilikom izlaganja toplinskom stres (Roy i Ghosh 1996).

## 7. Zaključak

*Moonlighting* proteini su sveprisutni, pronađeni su u velikom broju organizama i obavljaju vrlo raznolike funkcije. Sudjeluju u brojnim biološkim procesima i kao takvi služe kao poveznica različitih molekularnih puteva i omogućuju njihovo usklađivanje i preciznu regulaciju. U odgovoru na stres je vrlo važno održati ravnotežu kako ne bi došlo do iscrpljivanja biljke. *Moonlighting* funkcije gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaze upravo povezuju osnovni metabolizam i regulaciju biljnog odgovora na stresne uvjete. Nepovoljni uvjeti često donose kombinaciju različitih biotičkih i abiotičkih stresnih čimbenika, zbog čega je biljni odgovor još složeniji. Dehidrini pokazuju mnogostruke uloge u odgovoru na različite stresne uvjete i pokazuju koliko su oni isprepleteni. Normalni procesi u razvoju ponekad uzrokuju stres i programiranu staničnu smrt, a amin-oksidge su primjer kako se ovi procesi reguliraju u fiziološkim i patološkim stanjima. *Moonlighting* proteini kroz svoje višestruke uloge pokazuju složenost i isprepletenost fizioloških procesa i pružaju širu sliku biljnog odgovora na stres.

## 8. Literatura

- Agudelo-Romero, P., Bortolotti, C., Pais, M. S., Tiburcio, A. F. i Fortes, A. M. (2013) Study of polyamines during grape ripening indicate an important role of polyamine catabolism. *Plant physiology and biochemistry*, 67, 105–119.
- Allagulova, C., Gimalov, F. R., Shakirova, F. M. i Vakhitov, V. A. (2003) The plant dehydrins: structure and putative functions. *Biochemistry (Mosc.)*, 68(9), 945–951.
- An, Z., Jing, W., Liu, Y. i Zhang, W. (2008) Hydrogen peroxide generated by copper amine oxidase is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Journal of experimental botany*, 59(4), 815–825.
- Angelini, R., Bragaloni, M., Federico, R., Infantino, A. i Porta-Pugua, A. (1993) Involvement of polyamines, diamine oxidase and peroxidase in resistance of chickpea to *Ascochyta rabiei*. *Journal of plant physiology*, 142(6), 704-709.
- Angelini, R., Tisi, A., Rea, G., Chen, M. M., Botta, M., Federico, R. i Cona, A. (2008) Involvement of polyamine oxidase in wound healing. *Plant physiology*, 146(1), 162–177.
- Atkinson, N. J. i Urwin, P. E. (2012) The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of experimental botany*, 63(10), 3523–3543.
- Aziz, A., Martin-Tanguy, J. i Larher, F. (1998) Stress-induced changes in polyamine and tyramine levels can regulate proline accumulation in tomato leaf discs treated with sodium chloride. *Physiologia plantarum*, 104(2), 195-202.
- Baalman, E., Backhausen, J. E., Rak, C., Vetter, S. i Scheibe, R. (1995) Reductive modification and nonreductive activation of purified spinach chloroplast NADP-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Archives of biochemistry and biophysics*, 324(2), 201–208.
- Banerjee, A. i Roychoudhury, A. (2016) Group II late embryogenesis abundant (LEA) proteins: structural and functional aspects in plant abiotic stress. *Plant growth regulation*, 79(1), 1-17.
- Bouché, N. i Fromm, H. (2004) GABA in plants: just a metabolite?. *Trends in plant science*, 9(3), 110–115.
- Brini, F., Saibi, W., Amara, I., Gargouri, A., Masmoudi, K. i Hanin, M. (2010) Wheat dehydrin DHN-5 exerts a heat-protective effect on beta-glucosidase and glucose oxidase activities. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 74(5), 1050–1054.

- Brini, F., Yamamoto, A., Jlaiel, L., Takeda, S., Hobo, T., Dinh, H. Q., Hattori, T., Masmoudi, K. i Hanin, M. (2011) Pleiotropic effects of the wheat dehydrin DHN-5 on stress responses in *Arabidopsis*. *Plant & cell physiology*, 52(4), 676–688.
- Campos, F., Zamudio, F. i Covarrubias, A. A. (2006) Two different late embryogenesis abundant proteins from *Arabidopsis thaliana* contain specific domains that inhibit *Escherichia coli* growth. *Biochemical and biophysical research communications*, 342(2), 406–413.
- Castillo, J., Zúñiga, A., Franco, L. i Rodrigo, M. I. (2002) A chromatin-associated protein from pea seeds preferentially binds histones H3 and H4. *European journal of biochemistry*, 269(18), 4641–4648.
- Chen, C., Liu, H., Zabad, S., Rivera, N., Rowin, E., Hassan, M., Gomez De Jesus, S.M., Llinás Santos, P.S., Kravchenko, K., Mikhova, M. i Ketterer, S. (2021) MoonProt 3.0: an update of the moonlighting proteins database. *Nucleic acids research*, 49(D1), D368-D372.
- Close, T. J. (1996) Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiologia plantarum*, 97(4), 795-803.
- Cohen, S. S. (1998) *Guide to the polyamines*. Oxford University Press.
- Colell, A., Green, D. R. i Ricci, J. E. (2009) Novel roles for GAPDH in cell death and carcinogenesis. *Cell death and differentiation*, 16(12), 1573–1581.
- Colell, A., Ricci, J. E., Tait, S., Milasta, S., Maurer, U., Bouchier-Hayes, L., Fitzgerald, P., Guio-Carrion, A., Waterhouse, N. J., Li, C. W., Mari, B., Barbry, P., Newmeyer, D. D., Beere, H. M. i Green, D. R. (2007) GAPDH and autophagy preserve survival after apoptotic cytochrome c release in the absence of caspase activation. *Cell*, 129(5), 983–997.
- Cona, A., Moreno, S., Cenci, F., Federico, R. i Angelini, R. (2005) Cellular re-distribution of flavin-containing polyamine oxidase in differentiating root and mesocotyl of *Zea mays* L. seedlings. *Planta*, 221(2), 265–276.
- Cona, A., Rea, G., Angelini, R., Federico, R. i Tavladoraki, P. (2006) Functions of amine oxidases in plant development and defence. *Trends in plant science*, 11(2), 80–88.
- Davidson, W. S., Jonas, A., Clayton, D. F. i George, J. M. (1998) Stabilization of alpha-synuclein secondary structure upon binding to synthetic membranes. *The journal of biological chemistry*, 273(16), 9443–9449.
- De Pinto, M. C., Locato, V. i De Gara, L. (2012) Redox regulation in plant programmed cell death. *Plant, cell & environment*, 35(2), 234–244.

- Espinosa-Cantú, A., Ascencio, D., Barona-Gómez, F. i DeLuna, A. (2015) Gene duplication and the evolution of moonlighting proteins. *Frontiers in genetics*, 6, 227.
- Espinosa-Cantú, A., Cruz-Bonilla, E., Noda-Garcia, L. i DeLuna, A. (2020) Multiple forms of multifunctional proteins in health and disease. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 451.
- Espinosa-Cantú, A., Ascencio, D., Herrera-Basurto, S., Xu, J., Roguev, A., Krogan, N.J. i DeLuna, A. (2018) Protein moonlighting revealed by noncatalytic phenotypes of yeast enzymes. *Genetics*, 208(1), 419-431.
- Facchini P. J. (2001) Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 52, 29-66.
- Fincato, P., Moschou, P. N., Ahou, A., Angelini, R., Roubelakis-Angelakis, K. A., Federico, R. i Tavladoraki, P. (2012) The members of *Arabidopsis thaliana* PAO gene family exhibit distinct tissue- and organ-specific expression pattern during seedling growth and flower development. *Amino acids*, 42(2-3), 831–841.
- Ghugre, S. A., Carucci, A., Rodrigues-Pousada, R. A., Tisi, A., Franchi, S., Tavladoraki, P., Angelini, R. i Cona, A. (2015a). The apoplastic copper amine oxidase AtAO1 mediates jasmonic acid-induced protoxylem differentiation in *Arabidopsis* roots. *Plant physiology*, 168(2), 690–707.
- Ghugre, S. A., Carucci, A., Rodrigues-Pousada, R. A., Tisi, A., Franchi, S., Tavladoraki, P., Angelini, R. i Cona, A. (2015b) The MeJA-inducible copper amine oxidase AtAO1 is expressed in xylem tissue and guard cells. *Plant signaling & behavior*, 10(10), e1073872.
- Guo, L., Devaiah, S. P., Narasimhan, R., Pan, X., Zhang, Y., Zhang, W. i Wang, X. (2012) Cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases interact with phospholipase D $\delta$  to transduce hydrogen peroxide signals in the *Arabidopsis* response to stress. *The plant cell*, 24(5), 2200–2212.
- Hanin, M., Brini, F., Ebel, C., Toda, Y., Takeda, S. i Masmoudi, K. (2011) Plant dehydrins and stress tolerance: versatile proteins for complex mechanisms. *Plant signaling & behavior*, 6(10), 1503–1509.
- Hanson, A. D., Rathinasabapathi, B., Rivoal, J., Burnet, M., Dillon, M. O. i Gage, D. A. (1994) Osmoprotective compounds in the *Plumbaginaceae*: a natural experiment in metabolic engineering of stress tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(1), 306-310.
- Hara M. (2010) The multifunctionality of dehydrins: an overview. *Plant signaling & behavior*, 5(5), 503-508.

- Hara, M., Shinoda, Y., Tanaka, Y. i Kuboi, T. (2009) DNA binding of citrus dehydrin promoted by zinc ion. *Plant, cell & environment*, 32(5), 532–541.
- He, M., He, C. Q. i Ding, N. Z. (2018) Abiotic stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Frontiers in plant science*, 9, 1771.
- Hildebrandt, T., Knuesting, J., Berndt, C., Morgan, B. i Scheibe, R. (2015) Cytosolic thiol switches regulating basic cellular functions: GAPDH as an information hub? *Biological chemistry*, 396(5), 523–537.
- Holtgreffe, S., Gohlke, J., Starman, J., Druce, S., Klocke, S., Altmann, B., Wojtera, J., Lindermayr, C. i Scheibe, R. (2008) Regulation of plant cytosolic glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase isoforms by thiol modifications. *Physiologia plantarum*, 133(2), 211–228.
- Hou, Z. H., Liu, G. H., Hou, L. X., Wang, L. X. i Xin, L. I. U. (2013) Regulatory function of polyamine oxidase-generated hydrogen peroxide in ethylene-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of integrative agriculture*, 12(2), 251-262.
- Huberts, D.H. i van der Klei, I.J. (2010) Moonlighting proteins: an intriguing mode of multitasking. *Biochimica et biophysica acta (BBA) - Molecular cell research*, 1803(4), 520-525.
- Jeffery C. J. (1999) Moonlighting proteins. *Trends in biochemical sciences*, 24(1), 8–11.
- Jeffery C. J. (2015) Why study moonlighting proteins? *Frontiers in genetics*, 6, 211.
- Jeffery, C.J. (2017) Moonlighting proteins–nature's Swiss army knives. *Science progress*, 100(4), 363-373.
- Jeffery, C.J. (2018) Protein moonlighting: what is it, and why is it important? *Philosophical transactions of the Royal Society B: biological sciences*, 373(1738), 20160523.
- Jeffery C. J. (2019) An enzyme in the test tube, and a transcription factor in the cell: moonlighting proteins and cellular factors that affect their behavior. *Protein science*, 28(7), 1233–1238.
- Kim, S. C., Guo, L. i Wang, X. (2013) Phosphatidic acid binds to cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and promotes its cleavage in *Arabidopsis*. *The journal of biological chemistry*, 288(17), 11834–11844.
- Kim, S. C., Guo, L. i Wang, X. (2020) Nuclear moonlighting of cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase regulates *Arabidopsis* response to heat stress. *Nature communications*, 11(1), 3439.
- Koag, M. C., Fenton, R. D., Wilkens, S. i Close, T. J. (2003) The binding of maize DHN1 to lipid vesicles. Gain of structure and lipid specificity. *Plant physiology*, 131(1), 309–316.

- Koag, M. C., Wilkens, S., Fenton, R. D., Resnik, J., Vo, E. i Close, T. J. (2009) The K-segment of maize DHN1 mediates binding to anionic phospholipid vesicles and concomitant structural changes. *Plant physiology*, 150(3), 1503–1514.
- Koc, E. C., Bagga, S., Songstad, D. D., Betz, S. R., Kuehn, G. D. i Phillips, G. C. (1998) Occurrence of uncommon polyamines in cultured tissues of maize. *In vitro cellular & developmental biology-plant*, 34(3), 252-255.
- Konstantinos, P. A., Imene, T., Panagiotis, M. N. i Roubelakis-Angelakis, K. A. (2010) ABA-dependent amine oxidases-derived H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> affects stomata conductance. *Plant signaling & behavior*, 5(9), 1153–1156.
- Kovacs, D., Kalmar, E., Torok, Z. i Tompa, P. (2008) Chaperone activity of ERD10 and ERD14, two disordered stress-related plant proteins. *Plant physiology*, 147(1), 381–390.
- Laurenzi, M., Rea, G., Federico, R., Tavladoraki, P. i Angelini, R. (1999) De-etiolation causes a phytochrome-mediated increase of polyamine oxidase expression in outer tissues of the maize mesocotyl: a role in the photomodulation of growth and cell wall differentiation. *Planta*, 208(2), 146-154.
- Laurenzi, M., Tipping, A. J., Marcus, S. E., Knox, P. J., Federico, R., Angelini, R. i McPherson, M. J. (2001) Analysis of the distribution of copper amine oxidase in cell walls of legume seedlings. *Planta*, 214(1), 37-45.
- Lin, C. H., Peng, P. H., Ko, C. Y., Markhart, A. H. i Lin, T. Y. (2012) Characterization of a novel Y2K-type dehydrin VrDhn1 from *Vigna radiata*. *Plant & cell physiology*, 53(5), 930–942.
- Liu, T., Fang, H., Liu, J., Reid, S., Hou, J., Zhou, T., Tian, Z., Song, B. i Xie, C. (2017) Cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases play crucial roles in controlling cold-induced sweetening and apical dominance of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. *Plant, cell & environment*, 40(12), 3043–3054.
- Marini, F., Betti, L., Scaramagli, S., Biondi, S. i Torrigiani, P. (2001) Polyamine metabolism is upregulated in response to tobacco mosaic virus in hypersensitive, but not in susceptible, tobacco. *The new phytologist*, 149(2), 301–309.
- Martin-Tanguy, J. (2001) Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant growth regulation*, 34(1), 135-148.
- Michelet, L., Zaffagnini, M., Morisse, S., Sparla, F., Pérez-Pérez, M. E., Francia, F., Danon, A., Marchand, C. H., Fermani, S., Trost, P. i Lemaire, S. D. (2013) Redox regulation of the Calvin-Benson cycle: something old, something new. *Frontiers in plant science*, 4, 470.



Michels, S., Scagliarini, S., Della Seta, F., Carles, C., Riva, M., Trost, P. i Branlant, G. (1994) Arguments against a close relationship between non-phosphorylating and phosphorylating glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases. *FEBS letters*, 339(1-2), 97–100.

Mittler R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, 7(9), 405–410.

Møller, S. G. i McPherson, M. J. (1998) Developmental expression and biochemical analysis of the *Arabidopsis atao1* gene encoding an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-generating diamine oxidase. *The plant journal*, 13(6), 781–791.

Møller, S. G., Urwin, P. E., Atkinson, H. J. i McPherson, M. J. (1998) Nematode-induced expression of *atao1*, a gene encoding an extracellular diamine oxidase associated with developing vascular tissue. *Physiological and molecular plant pathology*, 53(2), 73-79.

Moschou, P. N., Sanmartin, M., Andriopoulou, A. H., Rojo, E., Sanchez-Serrano, J. J. i Roubelakis-Angelakis, K. A. (2008a) Bridging the gap between plant and mammalian polyamine catabolism: a novel peroxisomal polyamine oxidase responsible for a full back-conversion pathway in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 147(4), 1845–1857.

Moschou, P. N., Paschalidis, K. A., Delis, I. D., Andriopoulou, A. H., Lagiotis, G. D., Yakoumakis, D. I. i Roubelakis-Angelakis, K. A. (2008b) Spermidine exodus and oxidation in the apoplast induced by abiotic stress is responsible for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signatures that direct tolerance responses in tobacco. *The plant cell*, 20(6), 1708–1724.

Pegg A. E. (2014) The function of spermine. *IUBMB life*, 66(1), 8–18.

Petersen, J., Brinkmann, H. i Cerff, R. (2003) Origin, evolution, and metabolic role of a novel glycolytic GAPDH enzyme recruited by land plant plastids. *Journal of molecular evolution*, 57(1), 16–26.

Piattoni, C. V., Guerrero, S. A. i Iglesias, A. A. (2013) A differential redox regulation of the pathways metabolizing glyceraldehyde-3-phosphate tunes the production of reducing power in the cytosol of plant cells. *International journal of molecular sciences*, 14(4), 8073–8092.

Piattoni, C. V., Ferrero, D., Dellaferrera, I., Vegetti, A. i Iglesias, A. Á. (2017) Cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is phosphorylated during seed development. *Frontiers in plant science*, 8, 522.

Pottosin, I., Velarde-Buendía, A. M., Bose, J., Zepeda-Jazo, I., Shabala, S. i Dobrovinskaya, O. (2014) Cross-talk between reactive oxygen species and polyamines in regulation of ion transport across the plasma membrane: implications for plant adaptive responses. *Journal of experimental botany*, 65(5), 1271–1283.

Qu, Y., An, Z., Zhuang, B., Jing, W., Zhang, Q. i Zhang, W. (2014) Copper amine oxidase and phospholipase D act independently in abscisic acid (ABA)-induced stomatal closure in *Vicia faba* and *Arabidopsis*. *Journal of plant research*, 127(4), 533–544.

Raman, S. B. i Rathinasabapathi, B. (2003)  $\beta$ -alanine N-methyltransferase of *Limonium latifolium*. cDNA cloning and functional expression of a novel N-methyltransferase implicated in the synthesis of the osmoprotectant  $\beta$ -alanine betaine. *Plant physiology*, 132(3), 1642–1651.

Rea, G., Metoui, O., Infantino, A., Federico, R. i Angelini, R. (2002) Copper amine oxidase expression in defense responses to wounding and *Ascochyta rabiei* invasion. *Plant physiology*, 128(3), 865–875.

Rea, G., Laurenzi, M., Tranquilli, E., D'Ovidio, R., Federico, R. i Angelini, R. (1998) Developmentally and wound-regulated expression of the gene encoding a cell wall copper amine oxidase in chickpea seedlings. *FEBS letters*, 437(3), 177–182.

Rejeb, I. B., Pastor, V. i Mauch-Mani, B. (2014) Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants*, 3(4), 458–475.

Richard Strimbeck G. (2017) Hiding in plain sight: the F segment and other conserved features of seed plant SK<sub>n</sub> dehydrins. *Planta*, 245(5), 1061–1066.

Rius, S. P., Casati, P., Iglesias, A. A. i Gomez-Casati, D. F. (2006) Characterization of an *Arabidopsis thaliana* mutant lacking a cytosolic non-phosphorylating glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Plant molecular biology*, 61(6), 945–957.

Rodríguez, A. A., Maiale, S. J., Menéndez, A. B. i Ruiz, O. A. (2009) Polyamine oxidase activity contributes to sustain maize leaf elongation under saline stress. *Journal of experimental botany*, 60(15), 4249–4262.

Rodríguez-Saavedra, C., Morgado-Martínez, L. E., Burgos-Palacios, A., King-Díaz, B., López-Coria, M. i Sánchez-Nieto, S. (2021) Moonlighting proteins: the case of the hexokinases. *Frontiers in molecular biosciences*, 8, 701975.

Rorat, T., Grygorowicz, W. J., Irzykowski, W. i Rey, P. (2004) Expression of KS-type dehydrins is primarily regulated by factors related to organ type and leaf developmental stage during vegetative growth. *Planta*, 218(5), 878–885.

Roy, M. i Ghosh, B. (1996) Polyamines, both common and uncommon, under heat stress in rice (*Oryza sativa*) callus. *Physiologia plantarum*, 98(1), 196–200.

Scheibe, R. (1990) Light/dark modulation: regulation of chloroplast metabolism in a new light. *Botanica acta*, 103(4), 327–334.

Singh, N. i Bhalla, N. (2020) Moonlighting proteins. *Annual review of genetics*, 54, 265–285.

Smith, M. A. i Graether, S. P. (2022) The disordered dehydrin and its role in plant protection: a biochemical perspective. *Biomolecules*, 12(2), 294.

- Steppuhn, A., Gase, K., Krock, B., Halitschke, R. i Baldwin, I. T. (2004) Nicotine's defensive function in nature. *PLoS biology*, 2(8), E217.
- Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E. i Mittler, R. (2014) Abiotic and biotic stress combinations. *The new phytologist*, 203(1), 32–43.
- Takahashi, Y., Berberich, T., Miyazaki, A., Seo, S., Ohashi, Y. i Kusano, T. (2003) Spermine signalling in tobacco: activation of mitogen-activated protein kinases by spermine is mediated through mitochondrial dysfunction. *The plant journal*, 36(6), 820–829.
- Tavladoraki, P., Cona, A. i Angelini, R. (2016) Copper-containing amine oxidases and fad-dependent polyamine oxidases are key players in plant tissue differentiation and organ development. *Frontiers in plant science*, 7, 824.
- Terano, S. i Suzuki, Y. (1978) Formation of  $\beta$ -alanine from spermine and spermidine in maize shoots. *Phytochemistry*, 17(1), 148-149.
- Testard, A., Da Silva, D., Ormancey, M., Pichereaux, C., Pouzet, C., Jauneau, A., Grat, S., Robe, E., Brière, C., Cotelle, V., Mazars, C. i Thuleau, P. (2016) Calcium- and nitric oxide-dependent nuclear accumulation of cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in response to long chain bases in tobacco BY-2 cells. *Plant & cell physiology*, 57(10), 2221–2231.
- Tisi, A., Federico, R., Moreno, S., Lucretti, S., Moschou, P. N., Roubelakis-Angelakis, K. A., Angelini, R. i Cona, A. (2011) Perturbation of polyamine catabolism can strongly affect root development and xylem differentiation. *Plant physiology*, 157(1), 200–215.
- Tompa, P., Szász, C. i Buday, L. (2005) Structural disorder throws new light on moonlighting. *Trends in biochemical sciences*, 30(9), 484–489.
- Tristan, C., Shahani, N., Sedlak, T. W. i Sawa, A. (2011) The diverse functions of GAPDH: views from different subcellular compartments. *Cellular signalling*, 23(2), 317–323.
- Tsaniklidis, G., Kotsiras, A., Tsafouros, A., Roussos, P. A., Aivalakis, G., Katinakis, P. i Delis, C. (2016) Spatial and temporal distribution of genes involved in polyamine metabolism during tomato fruit development. *Plant physiology and biochemistry*, 100, 27–36.
- Vescovi, M., Zaffagnini, M., Festa, M., Trost, P., Lo Schiavo, F. i Costa, A. (2013) Nuclear accumulation of cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in cadmium-stressed *Arabidopsis* roots. *Plant physiology*, 162(1), 333–346.
- Wang, X., Sirover, M. A. i Anderson, L. E. (1999) Pea chloroplast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase has uracil glycosylase activity. *Archives of biochemistry and biophysics*, 367(2), 348–353.

- Wawer, I., Bucholc, M., Astier, J., Anielska-Mazur, A., Dahan, J., Kulik, A., Wysłouch-Cieszynska, A., Zareba-Kozioł, M., Krzywinska, E., Dadlez, M., Dobrowolska, G. i Wendehenne, D. (2010) Regulation of *Nicotiana tabacum* osmotic stress-activated protein kinase and its cellular partner GAPDH by nitric oxide in response to salinity. *The biochemical journal*, 429(1), 73–83.
- Wise, M. J. i Tunnacliffe, A. (2004) POPP the question: what do LEA proteins do?. *Trends in plant science*, 9(1), 13–17.
- Wisniewski, J. P., Rathbun, E. A., Knox, J. P. i Brewin, N. J. (2000) Involvement of diamine oxidase and peroxidase in insolubilization of the extracellular matrix: implications for pea nodule initiation by *Rhizobium leguminosarum*. *Molecular plant-microbe interactions*, 13(4), 413–420.
- Wu, J., Shang, Z., Wu, J., Jiang, X., Moschou, P. N., Sun, W., Roubelakis-Angelakis, K. A. i Zhang, S. (2010) Spermidine oxidase-derived H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> regulates pollen plasma membrane hyperpolarization-activated Ca<sup>2+</sup>-permeable channels and pollen tube growth. *The plant journal*, 63(6), 1042–1053.
- Xing, S. G., Jun, Y. B., Hau, Z. W. i Liang, L. Y. (2007) Higher accumulation of gamma-aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. *Plant physiology and biochemistry*, 45(8), 560–566.
- Xue, B., Zhang, A. i Jiang, M. (2009) Involvement of polyamine oxidase in abscisic acid-induced cytosolic antioxidant defense in leaves of maize. *Journal of integrative plant biology*, 51(3), 225–234.
- Yang, S.S. i Zhai, Q.H. (2017) Cytosolic GAPDH: a key mediator in redox signal transduction in plants. *Biologia plantarum*, 61(3), 417–426.
- Yoda, H., Yamaguchi, Y. i Sano, H. (2003) Induction of hypersensitive cell death by hydrogen peroxide produced through polyamine degradation in tobacco plants. *Plant physiology*, 132(4), 1973–1981.
- Zaffagnini, M., Fermani, S., Costa, A., Lemaire, S. D. i Trost, P. (2013) Plant cytoplasmic GAPDH: redox post-translational modifications and moonlighting properties. *Frontiers in plant science*, 4, 450.
- Zhai, C., Lan, J., Wang, H., Li, L., Cheng, X. i Liu, G. (2011) Rice dehydrin K-segments have *in vitro* antibacterial activity. *Biochemistry (Mosc.)*, 76(6), 645–650.
- Zhang, H., Zhao, Y. i Zhou, D. X. (2017) Rice NAD<sup>+</sup>-dependent histone deacetylase OsSRT1 represses glycolysis and regulates the moonlighting function of GAPDH as a transcriptional activator of glycolytic genes. *Nucleic acids research*, 45(21), 12241–12255.
- Zhang, H., Zhu, J., Gong, Z. i Zhu, J. K. (2022) Abiotic stress responses in plants. *Nature reviews. Genetics*, 23(2), 104–119.

## 9. Životopis

Rođena sam 30. srpnja 2000. godine u Čakovcu u Republici Hrvatskoj. U Varaždinu sam pohađala Prvu osnovnu školu Varaždin, a srednjoškolsko obrazovanje sam nastavila u Prvoj gimnaziji Varaždin, prirodoslovno-matematički smjer. 2019. godine upisujem preddiplomski studij Molekularne biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija sudjelovala sam u Noći muzeja u Prirodoslovnom muzeju u Zagrebu i u radionici popularizacije znanosti u udruzi Bioteka. U sklopu laboratorijske stručne prakse radila sam na restauraciji i digitalizaciji građe herbarijske zbirke Herbarium Croaticum.