

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Viktorie Stojková

Regulace homeostáze draselných kationtů v kvasinkách
Regulation of Potassium Cation Homeostasis in Yeasts

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Hana Sychrová, DrSc.

Praha, 2024

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce Haně Sychrové za její trpělivost, vstřícnost a věcné rady. Především bych chtěla mockrát poděkovat své kamarádce Viktorii Hoffmannové za její cenné rady při úpravě práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině a všem mým přátelům, kteří mě při psaní této práce podporovali.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem svou závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Při psaní abstraktu byl použit nástroj umělé inteligence ChatGPT k jazykové a stylistické úpravě textu.

V Praze 7.8.2024

Podpis

ABSTRAKT

Všechny organismy udržují ve svých buňkách vysokou koncentraci draselných kationtů a relativně nízkou koncentraci sodných kationtů, které jsou ve vyšších koncentracích pro buňky většiny organismů toxické. Pro udržování homeostáze jednomocných iontů buňky využívají celou řadu transportních systémů. Tato práce se zabývá popisem a srovnáním transportérů těchto kationtů v buňkách člověka, rostlin a kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Pro export nadbytečných Na^+ kationtů všechny organismy využívají evolučně konzervované Na^+/H^+ antiportery. Transportéry zajišťující import a dostatečnou akumulaci K^+ kationtů se liší podle organismů. U živočišných/lidských buněk se jedná hlavně o Na^+/K^+ ATPázy, u rostlin symportéry K^+ s protony. U kvasinek existují pro kvasinky a houby specifické transportéry typu Trk a symportéry K^+ kationtů s protony z rodiny Hak. Kromě transportérů v plazmatické membráně hrají roli i transportéry v membránách organel, které zajišťují optimální koncentraci K^+ kationtů a protonů a napomáhají také sekvestraci toxických Na^+ kationtů do vakuol. Většina transportních systémů v membránách intracelulárních organel jsou antiportery přenášející jednomocné ionty proti protonům. Regulace většiny transportérů probíhá posttranslačně. Mezi nejdůležitější mechanismy regulace patří fosforylace a defosforylace pomocí kináz a fosfatáz. U kvasinky *S. cerevisiae* se jedná především o kinázy Hog1 a Hrk1, které regulují antiporter Nha1 a transportér Trk1.

Klíčová slova: kvasinky, draselné ionty, sodné ionty, stres, homeostáze, kyselina octová, transportéry, regulace aktivity exprese

ABSTRACT

All organisms maintain a high concentration of potassium cations and a relatively low concentration of sodium cations in their cells, as higher concentrations of sodium cations are toxic to the cells of most organisms. To maintain the homeostasis of monovalent ions, cells utilize a variety of transport systems. This work describes and compares the transporters of these cations in human cells, plant cells, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. To export excess Na^+ cations, all organisms use evolutionarily conserved Na^+/H^+ antiporters. The transporters responsible for the import and sufficient accumulation of K^+ cations differ between organisms. In animal/human cells, these are mainly Na^+/K^+ ATPases, in plants K^+ symporters with protons. In yeast, there are yeast- and fungi-specific transporters of the Trk type and K^+ cation symporters with protons from the Hak family. Besides transporters in the plasma membrane, transporters in organelle membranes also play a role, ensuring optimal concentrations of K^+ cations and protons and helping to sequester toxic Na^+ cations into vacuoles. Most transport systems in the membranes of intracellular organelles are antiporters that transport monovalent ions against protons. The regulation of most transporters occurs post-translationally. Among the most important regulatory mechanisms are phosphorylation and dephosphorylation by kinases and phosphatases. In the yeast *S. cerevisiae*, these primarily include the kinases Hog1 and Hrk1, which regulate the Nha1 antiporter and the Trk1 transporter respectively.

Keywords: yeasts, potassium ions, sodium ions, stress, homeostasis, acetic acid, transporters, regulation of expression

Seznam zkratek

ATP	adenosin trifosfate
CHX	cation H ⁺ exchanger
CPA	cation proton antiporter
CTD	C-terminal domain
Dur3	degradation of urea
Ena	exitus natru
GICD	glucose induced cell death
HAK/HKT	high affinity potassium (K ⁺)
Hal	halotolerance
Hog	high osmolarity glycerol response
Hrk1	hygromycin resistance kinase 1
KCC	K ⁺ , Cl ⁻ cotransporter
Kha1	K ⁺ /H ⁺ antiporter 1
Kir channel	K ⁺ inward rectifying channel
KORC	K ⁺ outward rectifying channel
KT	K ⁺ transporter
KUP	K ⁺ uptake permease
Mdm38	mitochondrial distribution and morphology
MDR	multidrug resistance
MSF	major facilitator superfamily

NCC	Na ⁺ , Cl ⁻ cotransporter
Nha	Na ⁺ /H ⁺ antiporter
NHE	Na ⁺ , H ⁺ exchanger
NIS	Na ⁺ , I ⁻ symporter
NKCC	Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻ cotransporter
NPR	Nitrogen permease reactivator
NSC channel	non-specific cation channel
NSCC	nonselective cation channel
PDR	pleiotropic drug resistance
Pma1	plasma membrane ATPase 1
Ptk1	putative serine/threonine kinase 1
PTM	post-translational modification (post-translační modifikace)
Qdr	quinidine drug resistance
Rtk1	ribosome biogenesis and tRNA synthetase-associated kinase
Sit4	suppressor of initiation of transcription 4
Sky1	srpk-like kinase in yeast
Snf1	sucrose nonfermenting 1
SOS	salt overly sensitive
Tpo	transporters of polyamine
Trk	transporter of kalium
Vhc	vacuolar protein homologous to CCC family
VIC	voltage independent channel

Vnx1 vacuolar Na⁺/H⁺ exchanger
Yor1 yeast oligomycin resistance 1

Obsah

1.	Úvod.....	1
2.	Charakteristika kvasinek.....	2
	2.1 Využití kvasinek v průmyslu.....	3
	2.2 Kvasinky jako modelový organismus.....	3
3.	Homeostáze jednomocných kationtů v eukaryotických buňkách.....	4
	3.1. Homeostáze jednomocných kationtů v buňkách člověka	5
	3.1.1. Homeostáze sodných kationtů v buňkách člověka.....	7
	3.1.2. Homeostáze draselných kationtů v buňkách člověka.....	8
	3.3. Homeostáze jednomocných kationtů v rostlinách.....	10
	3.4. Homeostáze jednomocných kationtů v kvasinkách.....	12
	3.4.1. Homeostáze sodných kationtů v kvasince <i>S. cerevisiae</i>	12
	3.4.1. Homeostáze draselných kationtů v kvasince <i>S. cerevisiae</i>	14
4.	Transportéry kationtů v kvasinkách.....	15
	4.1. Transportéry sodných kationtů v plazmatické membráně	16
	4.1.1. Antiporter Nha1.....	17
	4.1.2. Transportéry Ena	17
	4.2 Transportéry draselných kationtů v plazmatické membráně.....	18
	4.2.1 Transportéry Trk1 a Trk2	18
	4.2.2. Kanál Tok1.....	19
	4.3. Intracelulární transportéry Na ⁺ a K ⁺ kationtů v kvasinkách.....	19
5.	Mechanismy regulace proteinů	21
	5.1. Regulace transportérů Ena	21
	5.2. Fosfatázy a kinázy v regulaci transportérů <i>S. cerevisiae</i>	22
	5.2.1. Kináza Npr1.....	23
	5.2.2. Kinázy Ptk1 a Ptk2	23
	5.2.3. Kinázy Hal4, Hal5 a Kkq8.....	24
	5.2.4. Kináza Rtk1.....	24
	5.2.5. Kináza Hrk1	25
6.	Závěr.....	27
	Seznam použité literatury.....	28

1. Úvod

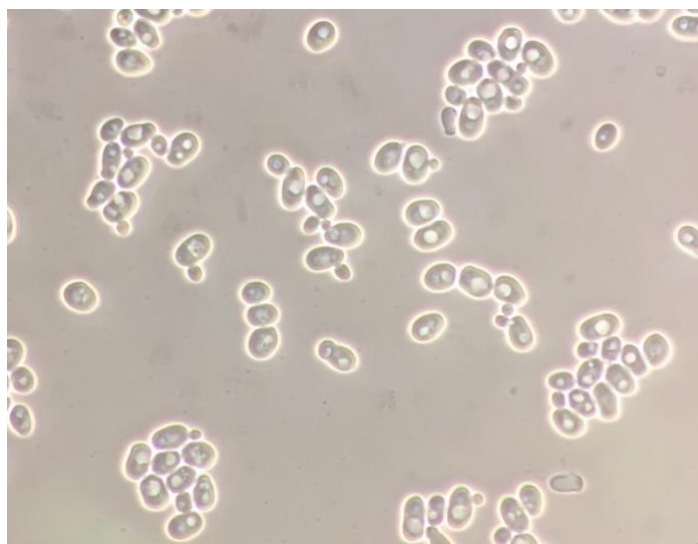
Pro všechny živé organismy je důležité jemně regulovat koncentraci živin a kationtů uvnitř buněk. Udržování optimální koncentrace jednomocných kationtů uvnitř buněk je nezbytné pro správné fungování buněk, jejich růst a dělení. Proto si všechny buňky vyvinuly různé transportní systémy v plazmatické membráně a eukaryotické buňky si na rozdíl od prokaryotických buněk vyvinuly transportéry v membránách vnitřních organel, které zajišťují příjem a odstraňování těchto kationtů z buněk (Ramos, Ariño a Sychrová, 2011; Cheng, Kuo a Huang, 2013; Srivastava *et al.*, 2020). Tyto transportéry se nacházejí v plazmatické membráně buněk, nebo v membránách vnitřních organel, kde slouží především k sekvestraci přebytečných nebo toxických kationtů, jako jsou například Na^+ a Li^+ kationty. Mezi kvasinkami a buňkami vyšších eukaryot můžeme najít některé homologní transportéry, které se podílejí na exportu Na^+ kationtů z buněk. Jednotlivé membránové transportéry se liší především mechanismem a směrem transportu, přičemž je nezbytná vzájemná spolupráce mezi jednotlivými transportéry, aby nedošlo k nerovnováze, protože jakákoliv odchylka ovlivní fungování buněk a má vliv na jednotlivé buněčné procesy, jako je například dělení buňky, syntéza proteinů a růst buňky.

Transportéry, které se podílejí na regulaci homeostáze draselných a sodných kationtů, jsou zároveň regulovány různými kinázami a fosfatázami, které mají mimojiné vliv na toleranci kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* vůči solím. Stále máme však poměrně málo informací, co se týče struktury a regulačních cílů většiny dosud známých kináz.

Ve své práci se zaměřuji na kvasinku *Saccharomyces cerevisiae* jakožto nejběžnější a nejvíce používaný modelový organismus pro zkoumání buněčných procesů v buňkách vyšších eukaryot. Kvasinka *S. cerevisiae* se využívá především díky své snadné kultivaci a podobnosti s buňkami vyšších eukaryot. Zároveň je poměrně dlouho známý celý genom této kvasinky, a tak máme k dispozici mnoho metod genového inženýrství pro genetickou manipulaci, což nám umožňuje lépe pochopit některé biologické procesy a jejich vliv na fenotyp (Janderová a Bendová, 1999).

2. Charakteristika kvasinek

Kvasinky jsou eukaryotické mikroorganismy patřící do říše *Fungi*. V současné době bylo popsáno 1 500 druhů, což je odhadováno jako pouze malá část všech druhů kvasinek (Kurtzman, Fell a Boekhout, 2010). Kvasinky tvoří společnou taxonomickou skupinu, ale rozlišujeme je na dvě třídy: *Ascomycetes* a *Basidiomycetes*. Potřebují pro svůj růst přítomnost kyslíku, živin a optimální podmínky prostředí. Kvasinky *S. cerevisiae* se vyskytují ve dvou životních formách – haploidní, která umožňuje snadnou přípravu mutantních kmenů; a diploidní, která vzniká křížením haploidních forem. Kvasinky *S. cerevisiae* mají elipsoidní až protáhlý tvar (viz obrázek 1), ale za suboptimálních růstových podmínek vytvářejí spory, aby přežily. Množí se pučením a často vytvářejí kolonie, přičemž kvasinková buňka má stejnou strukturu jako eukaryotická buňka, tj. plasmatickou membránu a celou řadu intracelulárních organel (Janderová a Bendová, 1999). Většina druhů kvasinek není infekční, nicméně existuje rod *Candida* – většina jeho zástupců může způsobovat vážná infekční onemocnění, která jsou významná zejména pro jedince s oslabenou imunitou. Těmito kvasinkami se ovšem ve své práci nebudu zabývat.



Obrázek 1: Mikroskopický snímek kvasinky *S. cerevisiae*, zvětšení: 100x, převzato z wikipedie.

2.1 Využití kvasinek v průmyslu

Kvasinka *S. cerevisiae* je jedna z nejběžnějších a nejvíce používaných druhů kvasinek, která se běžně používá jak ve výzkumu, tak i v biotechnologiích a v potravinářském průmyslu (např. při přípravě fermentovaných nápojů jako je pivo a víno).

První náznaky o využití kvasinek při výrobě piva a vína můžeme najít v rozmezí 14 000 – 13 000 před naším letopočtem díky archeologickým nálezům v oblasti Blízkého východu (jeskyně Raqefet v Izraeli; Liu *et al.*, 2018). Kromě piva a vína se kvasinka *S. cerevisiae* používá i při přípravě chleba a nejrůznějšího kynutého pečiva. Využitím jednoduchých monosacharidů a disacharidů produkuje ethanol a oxid uhličitý (CO₂), které vznikají jako finální produkty při fermentaci (Maicas, 2020).

Další využití kvasinky *S. cerevisiae* je v biotechnologiích, např. ve výrobě bioetanolu, enzymů a mnoha farmakologických látek s možným využitím v medicíně. Možná další využití jsou např. při produkci různých užitečných látek, jako jsou antibiotika, inzulin, vakcíny a vitamíny (Dušková, 2015).

2.2 Kvasinky jako modelový organismus

Kvasinka *S. cerevisiae* se běžně používá v laboratorním výzkumu, protože většinou nemůžeme provádět experimenty přímo v cílovém organismu (např. člověk) *in vivo*. Díky studiu kvasinek můžeme získat poměrně dobrou představu o fungování biologických procesů v buňkách vyšších organismů. Kvasinka *S. cerevisiae* je tak vhodným kandidátem pro studium vlastností, které odlišují eukaryotické buňky od prokaryotických (Janderová a Bendová, 1999).

V laboratoři mohou kvasinky sloužit jako model (*S. cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*), nástroj (např. *S. cerevisiae*, viz následující odstavec), nebo jsou díky svým specifickým vlastnostem objektem výzkumu (např. osmotolerantní *Zygosaccharomyces rouxii*, patogenní *Candida glabrata*). Jelikož známe úplnou sekvenci genomu již od roku 1996 (Goffeau *et al.*, 1996), máme tak k dispozici mnoho metod pro genetickou manipulaci kvasinky *S. cerevisiae*. Některé metody genetické manipulace byly známy ještě před zveřejněním úplné sekvence genomu, ale až během posledních 20 let došlo k velkému rozvoji molekulárně-biologických

metod (např. klonování genů a cílené úpravy), které nám pomáhají nejen při studiu kvasinek, ale také samotných eukaryotických buněk (Dušková, 2015).

Kvasinky *S. cerevisiae* můžeme využít např. pro výzkum buněčného cyklu (Zander *et al.*, 2017), dráhy signální transdukce (Alepuz *et al.*, 1999), studiu stárnutí (Burtner *et al.*, 2009), metabolismu (Picazo *et al.*, 2019), buněčné apoptózy (Muzaffar a Chattoo, 2017), neurodegenerativních poruch (Giorgini *et al.*, 2005) a dalších biologických procesů.

Pomocí nástrojů genového inženýrství, jako je například heterologní exprese lidských genů v kvasince *S. cerevisiae*, můžeme studovat strukturu a funkci jimi kódovaných proteinů. Výhodou využití této kvasinky jako modelového organismu je relativně snadné zacházení (izolace mutantů, přenos genů, kultivace, atd.; Janderová a Bendová, 1999). Kvasinky *S. cerevisiae* můžeme rovněž upravovat tak, aby získaly nové a lepší vlastnosti a mohly syntetizovat požadované látky, které mohou mít další využití, např. v medicíně (Dušková, 2015).

3. Homeostáze jednomocných kationtů v eukaryotických buňkách

Homeostáze je snaha o udržení stálého vnitřního prostředí v buňkách oproti vnějšímu prostředí (Mas-Bargues *et al.*, 2023). V této kapitole se budu zabývat pouze homeostází draselných a sodných kationtů a jejich regulací u eukaryotických organismů (primárně savců – člověka, rostlin a nižších eukaryot – kvasinky *S. cerevisiae*). Udržování optimální koncentrace K^+ a Na^+ kationtů v buňkách je důležité pro jejich správné fungování, tj. růst, dělení buňky a zajišťování jejích základních funkcí (např. syntéza proteinů). Tento proces je velmi důkladně regulován v závislosti na příjmu těchto kationtů a na jejich odstraňování. Transportéry Na^+ a K^+ kationtů (viz obrázek 3) rovněž pomáhají regulovat intracelulární pH a udržovat membránový potenciál (Cheng, Kuo a Huang, 2013; Bernal *et al.*, 2023). U vyšších organismů je koncentrace K^+ a Na^+ kationtů důležitá nejen pro správné fungování jednotlivých buněk, ale i v kontextu celých tkání, orgánů, celého organismu a vzájemnými interakcemi mezi nimi.

Sodné a draselné kationty v buňkách zajišťují různé funkce a tyto charakteristické znaky jsou částečně společné pro všechny eukaryotické buňky. Všechny rozdíly a specifické

vlastnosti charakteristické pro vyšší i nižší eukaryota (kvasinka *S. cerevisiae*) budou popsány v následujících kapitolách.

Hlavní funkcí Na^+ kationtů v rostlinných buňkách je regulace růstu. Sodné kationty v rostlinných buňkách jsou schopné narušit některé funkce, které zajišťují K^+ kationty, jako např. regulaci membránového potenciálu, mechanismy adaptace vůči osmotickému šoku, růst buněk, enzymatickou aktivitu a syntézu proteinů (Adams a Shin, 2014). Sodné kationty jsou pro rostliny ve většině případů toxické, výjimku tvoří C_4 a CAM rostliny, které mohou udržovat vyšší koncentraci těchto kationtů. Důležité transportéry, které se podílejí na regulaci homeostáze Na^+ kationtů v buňkách budou blíže popsány v kapitole 3.2.

Draselné kationty jsou pro rostliny a jejich buňky důležité kvůli jejich správnému fungování, proto je musí buňky akumulovat. Ačkoliv je půda většinou bohatá na minerály draslíku, poměrně málo draslíku se vyskytuje ve formě přijatelné pro rostliny – K^+ kationty rozpustné ve vodě. Tyto kationty se hlavně podílejí na regulaci buněčného turgoru, fotosyntézy a na udržení optimální iontové a vodní homeostáze (Srivastava *et al.*, 2020). Zároveň se do jisté míry podílejí na udržování membránového potenciálu, jelikož při deficienci K^+ kationtů dojde k hyperpolarizaci membrány kořenových buněk.

Sodné kationty jsou pro kvasinky *S. cerevisiae* (ale i pro vyšší eukaryota) toxické, jelikož při vyšších koncentracích způsobují osmotický šok a ovlivňují tak buněčný růst a dělení, přičemž v konečném důsledku může dojít k buněčné smrti. Transportéry, které se podílejí na udržování homeostáze Na^+ kationtů budou dále popsány v kapitolách 3.3. a 4.

Draselné kationty jsou nezbytné pro správný růst kvasinkové buňky, jelikož se podílejí na regulaci intracelulárního pH, kompenzují záporné náboje v jádře, udržují buněčný objem a přispívají k udržení membránového potenciálu. Transportéry, které se podílejí na udržování optimální koncentrace těchto kationtů v kvasinkách *S. cerevisiae* budou dále popsány v kapitolách 3.3. a 4.

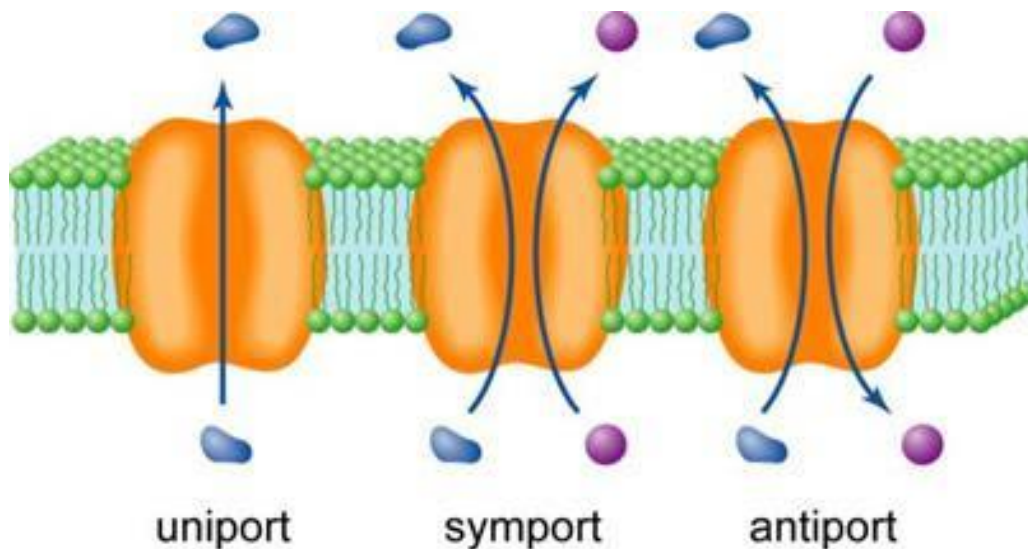
3.1. Homeostáze jednomocných kationtů v buňkách člověka

Jak již bylo zmíněno výše Na^+ kationty jsou pro lidské buňky toxické. Je proto důležité udržovat koncentraci těchto kationtů na nižších hodnotách, jelikož jejich nadbytek ovlivňuje

správné fungování buňky – způsobuje osmotický šok a v případě hypernatrémie může vést i k některým patologiím, které jsou popsány v následující kapitole.

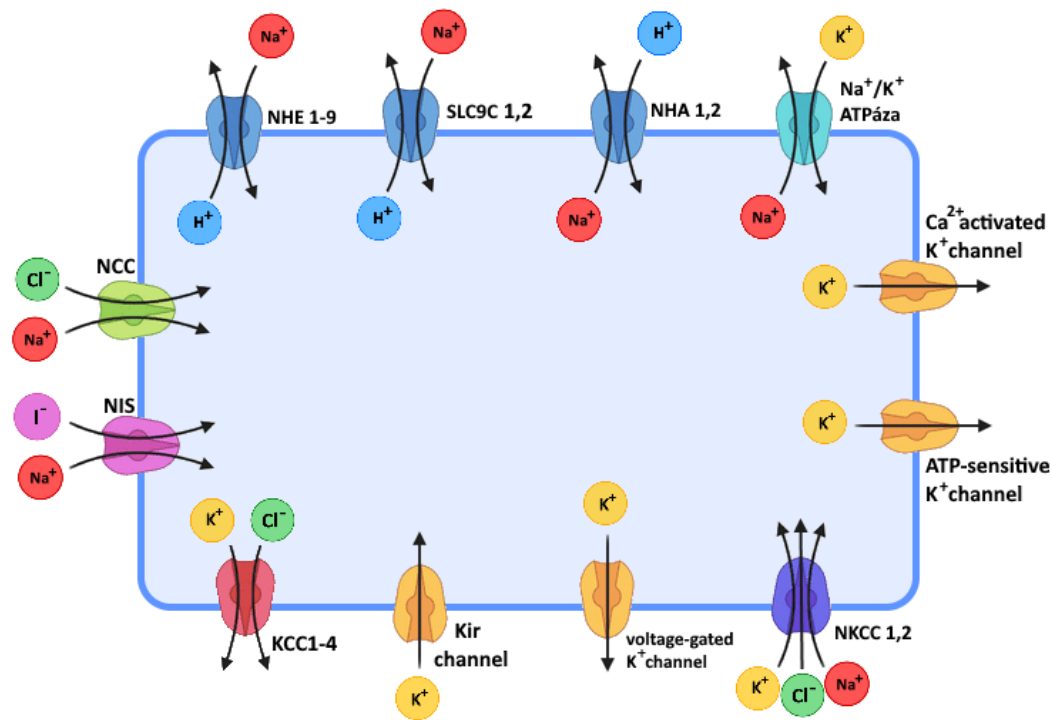
Draselné kationty jsou nezbytné pro správný růst a dělení buněk, zajišťují také některé buněčné procesy, jako je např. syntéza proteinů. Jak již bylo zmíněno výše, udržování optimální koncentrace těchto kationtů tak napomáhá regulaci membránového potenciálu a intracelulárního pH (Cheng, Kuo a Huang, 2013). Naopak odchylka od standardní koncentrace K^+ kationtů může vést ke zhoršení funkce některých orgánů – ledviny v případě hypokalémie, jak je blíže popsáno v kapitole 3.1.2. (Faroqui, Sheriff a Amlal, 2006).

Všechny důležité transportéry Na^+ a K^+ kationtů (včetně směru transportu – viz obrázek 2) v plazmatické membráně živočišných buňkách jsou znázorněny na obrázku 3, přičemž tento obrázek slouží pouze jako schéma, v lidských buňkách jsou transportéry specifické pro jednotlivé orgány a nevyskytují se takto nahloučené v jedné buňce.



Obrázek 2: Typy transportérů podle mechanismu transportu - uniport, symport a antiport. Převzato z: http://orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/29-Regulace%20metabolismu/29-Regul-MembrTransport.htm.

3.1.1. Homeostáze sodných kationtů v buňkách člověka



Obrázek 3: Transportéry sodných a draselných kationtů v plazmatické membráně živočišných buněk (schéma). Všechny transportéry a kanály jsou popsány v textu. Převzato od: Broer a Gauthier-Coles 2022, upraveno: Viktorie Stojková

Koncentrace Na^+ uvnitř živočišných buněk je poměrně nízká vzhledem k extracelulární koncentraci sodíku, která je mnohonásobně vyšší, než koncentrace K^+ kationtů. Všechny savčí buňky exprimují Na^+/K^+ ATPázu, která se skládá ze tří podjednotek – alfa, beta a gama a je tvořena 1 018, 303 a 66 aminokyselinami. Transportuje sodné kationty ven a draselné kationty dovnitř buňky (v poměru $3 \text{Na}^+ : 2 \text{K}^+$), což vede ke vzniku K^+ a Na^+ gradientů orientovaných navzájem opačným směrem (Skou a Esmann, 1992). Tento děj je částečně zodpovědný za udržování membránového potenciálu (Skou a Esmann, 1992; Blanco a Mercer, 1998) a zároveň je nezbytný pro udržení homeostáze sodíku a draslíku v buňkách. Kromě této ATPázy se na regulaci homeostáze Na^+ kationtů podílejí i další transportéry, jako např. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ transportér (NKCC), $\text{Na}^+ - \text{Cl}^-$ transportér (NCC) a $\text{Na}^+ - \text{I}^-$ transportér (NIS) (Bernal *et al.*, 2023), které fungují jako symportéry a transportují Na^+ , K^+ , Cl^- a I^- ionty dovnitř buněk. Transportér NKCC existuje ve dvou izoformách - NKCC1 a NKCC2, které se vzájemně liší svojí délkou a lokalizací v rámci buněk, která je tkáňově specifická. Protein NKCC1 je exprimován v bazolaterální membráně exokrinních žláz a protein

NKCC2 v apikální membráně nefronů (Castrop a Schießl, 2014; Chew *et al.*, 2019). Transportér NCC je tvořen 1 023 aminokyselinami a podílí se na regulaci krevního tlaku a resorpci Na^+ kationtů (Cruz *et al.*, 2001). Transportér NIS je tvořen 643 aminokyselinami a vyskytuje se ve štítné žláze, podílí se na její správné fyziologii a zároveň je zodpovědný za aktivní transport jodidových aniontů ve štítné žláze (Eskandari *et al.*, 1997).

Dalšími důležitými transportéry, které se podílejí na udržení homeostáze Na^+ kationtů v buňkách, jsou antiportery NHE. Tyto antiportery přenášejí Na^+ kationty výměnou za protony, mezi které patří více transportérů, a patří do superrodiny kationt-protonových antiporterů CPA (cation proton antiporters). Rozdělujeme je do tří skupin: SLC9A (NHE1-9), SLC9B (NHA1, 2) a SLC9C (SLC9C1, SLC9C2), které jsou přítomné v plazmatické membráně, v membránách vnitřních organel a vyskytují se u všech eukaryot (Donowitz, Ming Tse, a Fuster, 2013; Fuster a Alexander, 2014). Celkové rozdělení antiporterů CPA je mnohem komplexnější. V případě člověka je dosud známo 13 různých antiporterů CPA (Masrati *et al.*, 2018).

Udržení koncentrace Na^+ kationtů v rovnováze je důležité nejen pro správné fungování buněk, ale rovněž se jedná o důležitou hydrominerální homeostáze celého organismu. Zvýšená koncentrace Na^+ kationtů v buňkách (a zároveň v celém organismu) u lidí může vést k hypernatrémii, která může způsobit i *diabetes insipidus* (Spatenkova *et al.*, 2011). Zároveň může docházet ke zvýšení krevního tlaku a rozvoji hypertenze. Snížená koncentrace Na^+ kationtů neboli hyponatrémie může vést až k syndromu cerebrálně podmíněné ztráty solí (Dahl a Heine, 1975).

3.1.2. Homeostáze draselných kationtů v buňkách člověka

Extracelulární zásoby draselných iontů tvoří pouze 2 % z celkového obsahu draslíku v lidském organismu. Koncentrace K^+ iontů v extracelulární tekutině, která musí být udržována ve velmi úzkém rozmezí (standardně mezi 3,5 – 5 mmol/l v plasmě) je zásadním determinanem klidového membránového potenciálu buněk (Cheng, Kuo a Huang, 2013). Většina K^+ kationtů se však nachází uvnitř buněk. Udržování optimální koncentrace těchto kationtů je důležité pro jejich správné fungování, regulaci homeostáze těchto kationtů a intracelulárního pH. Draselné kationty jsou do buněk transportovány pomocí Na^+/K^+ ATPázy, která současně transportuje Na^+ kationty ven. Dalšími transportéry a kanály, které se podílejí

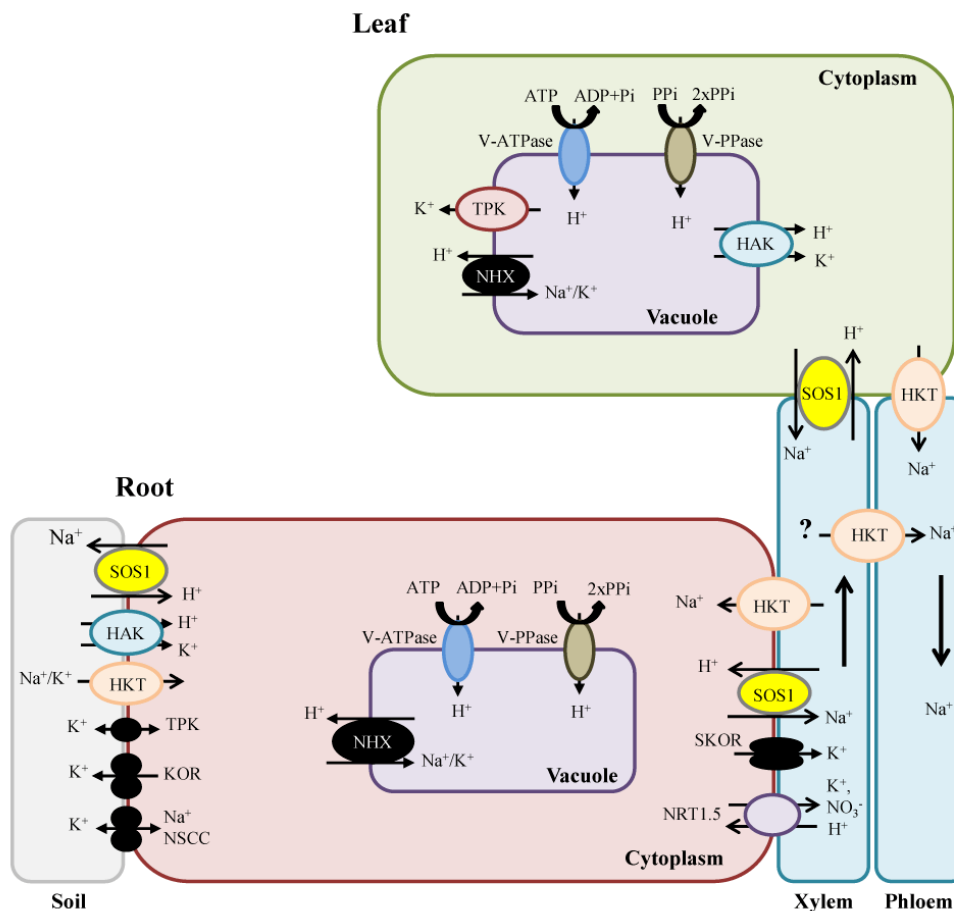
na transportu K^+ kationtů dovnitř buněk, jsou tzv. inward rectifying potassium channels (Kir) a Na^+ , K^+ - Cl^- kotransportéry (NKCC; Cheng, Kuo a Huang, 2013).

Transportéry KCC fungují jako symportéry, které transportují K^+ a Cl^- ionty z buněk, přičemž existují 4 izoformy tohoto transportéru: KCC1 je tvořen 1 085 aminokyselinami a vyskytuje se téměř ve všech buňkách (Gillen *et al.*, 1996); KCC2 je tvořen 1 139 aminokyselinami a vyskytuje se v centrální nervové soustavě (Silayeva *et al.*, 2015); KCC3 je tvořen 1 150 aminokyselinami a je exprimován v neuronech (Mount *et al.*, 1999; Mercado *et al.*, 2005); KCC4 je tvořen 1 084 aminokyselinami a vyskytuje se v kostní dřeni, srdci, plicích a slinivce břišní (Mount *et al.*, 1999).

Kanály, které se podílejí na exportu K^+ kationtů z buněk, jsou napěťově řízené draslíkové kanály (tzv. voltage-gated), ATP-senzitivní K^+ kanál a vápníkem aktivovaný K^+ kanál (Ca^{2+} activated K^+ channel, viz obrázek 2). Napěťově řízené draslíkové kanály pomáhají vést nervový vzruch a udržovat akční potenciál, přičemž na vzniku akčního potenciálu se podílejí také Na^+ kationty a Na^+/K^+ ATPáza, která přispívá k dosažení původních hodnot klidového membránového potenciálu. ATP-senzitivní K^+ kanál se otevře po detekci ATP, a pouze tehdy je schopný exportovat K^+ kationty ven z buněk. Vápníkem aktivovaný K^+ kanál reaguje na přítomnost Ca^{2+} kationtů v buňce, čímž dojde k jeho otevření a následnému exportu kationtů z buněk (Weaver, Bomben a Sontheimer, 2006).

Celkový obsah K^+ kationtů v těle a jeho správný přenos přes buněčnou membránu jsou klíčové pro správné fungování buněk. Jakákoliv odchylka od standardních hodnot extracelulární koncentrace těchto kationtů v těle s sebou nese riziko vzniku různých komplikací, které se následně musí řešit pomocí medikace, nebo úpravou stravy/dietou. Strava bohatá na K^+ kationty je spojená se snížením krevního tlaku, sníženým rizikem mrtvice, zlepšováním zdraví kostí a snižováním rizika vzniku ledvinových kamenů. Hypokalémie, neboli snížená koncentrace draselných kationtů v krevním séru, se projevuje při hladině draslíku menší než 3,5 mmol/l - jejími symptomy jsou únava, křeče v nohou, pocit slabosti a zácpa. Snížené množství draslíku může zvýšit riziko abnormálního srdečního rytmu, který je většinou příliš pomalý a může vést k infarktu, rovněž může docházet ke zvýšení krevního tlaku. Hyperkalémie, neboli zvýšená koncentrace K^+ kationtů, je poměrně vzácná a většinou je spojená se zhoršenou funkcí ledvin (Palmer a Clegg, 2016).

3.3. Homeostáze jednomocných kationtů v rostlinách



Obrázek 4: Transportéry iontů v rostlinných buňkách *Arabidopsis thaliana*. Hlavní transportní systémy jsou popsány v textu. Převzato od: Walid a Faical 2021.

Všechny důležité transportéry jednomocných kationtů v rostlinných buňkách jsou znázorněny na obrázku 4, přičemž chybí transportér CHX a kanál VIC, který má podobnou funkci jako transportér NHX. Jak již bylo zmíněno dříve, vyšší koncentrace Na^+ kationtů v cytoplasmě rostlinných buněk je toxická, proto je důležité, aby byla koncentrace Na^+ kationtů v buňkách nízká. Ale existují i některé rostliny (C4 a CAM rostliny), pro které jsou tyto kationty při vyšších koncentracích výhodné (Carden *et al.*, 2003). Stále však dochází k aktivnímu exportu Na^+ kationtů z buněk (Álvarez-Aragón *et al.*, 2016), nebo jejich sekvestraci do vakuol, což je regulováno transportéry NHX, přičemž rostliny mají ve svém genomu více kopií genů pro tyto antiportery. Podílejí se na sekvestraci přebytečných Na^+ kationtů a regulaci pH ve vakuolách. Tyto transportéry jsou poháněny pomocí protonového gradientu generovaného H^+ - ATPázou. Sodné kationty z půdy se do buněk dostávají pasivně, nebo prostřednictvím nespecifických transportérů a kanálů pro K^+ kationty. Jedna z důležitých signálních

drah v buňkách je tzv. dráha SOS, která funguje na základě detekce Ca^{2+} kationtů pomocí proteinů SOS3 a tzv. SOS3-like calcium-binding proteinů 8, které detekují a váží Ca^{2+} kationty a následně aktivují protein kinázu SOS2. Tato protein kináza následně aktivuje Na^+/H^+ antiporter SOS1, který odstraňuje přebytečné Na^+ kationty ven z buňky výměnou za protony. Prvotní impuls, který zvýší koncentraci Ca^{2+} kationtů uvnitř buňky je zvýšená intracelulární koncentrace Na^+ kationtů, přičemž Ca^{2+} kationty jsou následně detekovány a navázány na SOS3 protein, který následně aktivuje další kinázy a transportéry této signální dráhy (Halfter, Ishitani, a Zhu, 2000; Jianfang Li *et al.*, 2023).

Mezi transportéry, které se podílejí na transportu Na^+ kationtů do buněk, patří antiportery z rodiny HAK a HKT. Tento transport je nespecifický a nízkoafinitní. Transportují K^+ kationty a protony a v rámci více druhů existuje více těchto transportérů; např. HKT1 u *Arabidopsis thaliana*, který funguje jako Na^+ , K^+ symporter, a při solném stresu funguje jako nízkoafinitní Na^+ transportér (Adams a Shin, 2014). Během osmotického stresu se uplatňují i kationt/ H^+ transportéry (CHX). Zároveň dochází i ke zvýšení exprese protonové H^+ - ATPázy. Jednou z možností pro transport Na^+ kationtů do buněk je kanál NSCC (nonselective cation channel), který se nachází v plazmatické membráně a dokáže zároveň transportovat i K^+ kationty, jak vyplývá z jeho názvu – je neselektivní (Demidchik a Tester, 2002). Přestože nevíme příliš mnoho o fungování tohoto kanálu, předpokládá se, že se podílí na stabilizaci a udržování optimálního membránového potenciálu a je schopný se rychle adaptovat na osmotický stres (Maathuis, 1999).

Delece konkrétních exportérů Na^+ kationtů, nebo příliš vysoká extracelulární koncentrace těchto kationtů způsobuje nedostatečně rychlé odstraňování těchto kationtů (jejich akumulaci), což vede ke zhoršení fungování rostlinné buňky. Příliš vysoká koncentrace Na^+ solí způsobí osmotický stres, se kterým se buňka musí vyrovnat (např. zvýšením exprese sodných exportérů), aby mohla efektivněji odstraňovat přebytek těchto kationtů. V konečném důsledku dochází ke zpomalení rostlinného růstu a vývoje jednotlivých orgánů (kořeny, stonek, listy), včetně snížení celkové produkce u hospodářsky významných rostlin (obilí, chmel, vinná réva; Demidchik a Tester, 2002; Jianfang Li *et al.*, 2023).

Nejdůležitější skupinou transportérů K^+ kationtů v rostlinách jsou tzv. HAK/KUP/KT (high-affinity K^+ transporter/ K^+ uptake permease/ K^+ transporter), které tvoří největší skupinu

transportérů těchto kationtů u rostlin a modulují vstup K^+ kationtů do buněk v závislosti na vnějších podmínkách. Tato skupina je tvořena více transportéry, které se liší podle druhu rostliny a jejich buněčné lokalizace, přičemž některé se nacházejí v plazmatické membráně, jiné v membráně endoplazmatického retikula a další ve vakuole (Yang *et al.*, 2020).

Kromě specifických transportérů se na přenosu K^+ kationtů do/z buněk podílejí i různé kanály, mezi které patří tzv. KIRCs (K^+ inward rectifying channels), KORCs (K^+ outward rectifying channels) a VICs (voltage independent channels). Všechny tyto kanály se podílejí na transportu K^+ (a Na^+) kationtů, ovšem s různým směrem. KIRCs kanály jsou hlavní dráhou pro nízkoafinitní transport K^+ kationtů do buněk a jsou vysoce selektivní pro K^+ kationty na úkor Na^+ kationtů (Maathuis a Sanders, 1995). Předpokládá se, že primární funkcí KORCs kanálů je stabilizace a udržování optimálního membránového potenciálu. Též se podílejí na exportu přebytečných K^+ kationtů z buněk (Schachtman, Tyerman a Terry, 1991). VICs patří mezi neselektivní kanály transportující jednomocné kationty, jejich podíl na transportu K^+ kationtů do buněk je ovšem zanedbatelný, jelikož exprese VICs je poměrně nízká v porovnání s KIRCs kanály (Broadley a White, 2001).

Draselné kationty jsou pro rostliny zásadní z hlediska správného vývoje rostlinných orgánů (kořeny, listy a stonek), růstu rostliny a správného fungování buněk, včetně buněčných procesů v odpovědi na osmotický stres (Adams a Shin, 2014).

3.4. Homeostáze jednomocných kationtů v kvasinkách

V kvasinkách *S. cerevisiae* je homeostáze jednomocných kationtů udržována různými sekundárními transportéry, z nichž některé jsou poháněny protonovým gradientem generovaným pomocí H^+ - ATPázy Pma1. Výjimkou jsou např. transportéry Ena, které fungují jako ATPázy. Tyto transportéry se podílejí na přenosu Na^+ a K^+ kationtů mezi buňkou a vnějším prostředím (Ariño, Ramos a Sychrova, 2019).

3.4.1. Homeostáze sodných kationtů v kvasince *S. cerevisiae*

Z důvodu toxického charakteru tohoto kationtu se v buňkách kvasinek vyskytuje pouze v nízkých koncentracích, které odpovídají zhruba 20 mM za běžných podmínek (Olz *et al.*, 1993). Nízká koncentrace Na^+ kationtů je v buňce udržována pomocí různých transportérů (Ramos, Ariño a Sychrová, 2011; Ariño, Ramos a Sychrova, 2019). Proto

si kvasinky *S. cerevisiae* vyvinuly různé transportní systémy, které jim pomáhají buď odstraňovat přebytečné Na⁺ kationty z buňky, nebo je ukládat do vnitřních organel. Na exportu Na⁺ kationtů z buněk se podílejí především antiporter Nha1 (Prior *et al.*, 1996; Bañuelos *et al.*, 1998) a Na⁺, K⁺ - ATPáza Ena (Benito, Garciadeblás, a Rodríguez-Navarro, 2002).

Genom kvasinky *S. cerevisiae* obsahuje více tandemových kopií genů pro transportéry Ena v závislosti na konkrétním kmeni, přičemž počet kopií těchto genů se většinou pohybuje kolem 4-5 (Garcia-deblas *et al.*, 1993; Wieland *et al.*, 1995). Antiporter Nha1 zároveň pomáhá regulovat intracelulární pH a přispívá k udržení optimálního membránového potenciálu (Sychrová, Ramírez a Peña, 1999). Transportéry Ena jsou důležitými determinanty tolerance kvasinek vůči zásaditému pH (Garcia-deblas *et al.*, 1993; Mendoza *et al.*, 1994).

Antiporter Nha1 a ATPázy Ena se však liší svojí strukturou a mechanismem transportu (viz obrázek 2), jelikož Nha1 funguje jako antiporter, který se zbavuje Na⁺ kationtů výměnou za protony. Transportéry Ena fungují jako ATPázy, kdy je export Na⁺ kationtů poháněn energií z hydrolyzy ATP. Oba transportéry se nacházejí v plazmatické membráně kvasinky *S. cerevisiae* (Garcia-deblas *et al.*, 1993; Yenush, 2016). Efektivita transportérů Ena závisí na intracelulární hodnotě pH, jelikož transportéry Ena jsou aktivní při mírně kyselém nebo zásaditém pH a pomáhají tak udržovat homeostázi Na⁺ kationtů. Při kyselém pH regulace homeostáze těchto kationtů závisí na aktivitě antiporteru Nha1 (Bañuelos *et al.*, 1998). Exprese transportérů Ena je v kvasince *S. cerevisiae* za běžných podmínek velmi nízká, přičemž ke zvýšení exprese genu *ENA* dochází v reakci na osmotický stres, nebo výraznou změnu intracelulárního pH (Garcia-deblas *et al.*, 1993).

Druhou možností, jak se kvasinky vypořádávají s příliš vysokou intracelulární koncentrací Na⁺ kationtů je jejich ukládáním do vnitřních organel, jako jsou vakuoly, Golgiho aparát a mitochondrie (Cagnac *et al.*, 2007). Mezi tyto transportéry patří především antiporter Vnx1, který se nachází v membráně vakuoly, a Nhx1 v membráně pozdního endosomu. Oba transportéry se podílejí nejen na regulaci homeostáze, ale také na udržování optimálního membránového potenciálu a regulaci intracelulárního pH (Brett *et al.*, 2005; Cagnac *et al.*, 2007).

Pokud dojde k akumulaci Na⁺ kationtů v buňkách, např. v důsledku příliš vysokého množství sodíku ve vnějším prostředí, popř. defektu v transportérech, toto vede ke zpomalení růstu a nakonec ke smrti buňky. U různých mutantních kmenů se tolerance vůči vyšší koncentraci Na⁺ kationtů bude projevovat jinak, např. kmen BYT45, který neexprimuje transportéry Ena a Nha1, nebude růst na médiu s vyšší koncentrací Na⁺ kationtů, protože je nemůže efektivně odstraňovat (Bañuelos *et al.*, 1998).

3.4.1. Homeostáze draselných kationtů v kvasince *S. cerevisiae*

Jak již bylo zmíněno výše, draselné kationty jsou nezbytné pro správný růst buňky, jelikož se podílejí na regulaci intracelulárního pH, kompenzují záporné náboje v jádře, udržují buněčný objem a přispívají k udržení membránového potenciálu. Kvasinka *S. cerevisiae* je schopna růst při poměrně širokém rozhraní koncentrace K⁺ iontů v médiu (10 μM – 2,5 M), přičemž intracelulární koncentrace K⁺ iontů se většinou pohybuje mezi 200 – 300 mM za běžných podmínek, ovšem tato koncentrace se sníží při limitní koncentraci K⁺ v médiu, nebo v případě zvýšené koncentrace Na⁺ kationtů (Herrera *et al.*, 2013). Hlavní transportér, který zajišťuje vstup K⁺ kationtů do buňky, je Trk1 lokalizovaný v plazmatické membráně. Do stejné skupiny transportérů patří i Trk2, který se pouze částečně podílí na transportu K⁺ kationtů do buněk za standardních podmínek, ale jeho aktivita je zásadní při specifických stresových podmínkách, jako je např. glukózou indukovaná buněčná smrt (GICD – glucose induced cell death), kdy umožňuje buňce přežít (Dušková *et al.*, 2021).

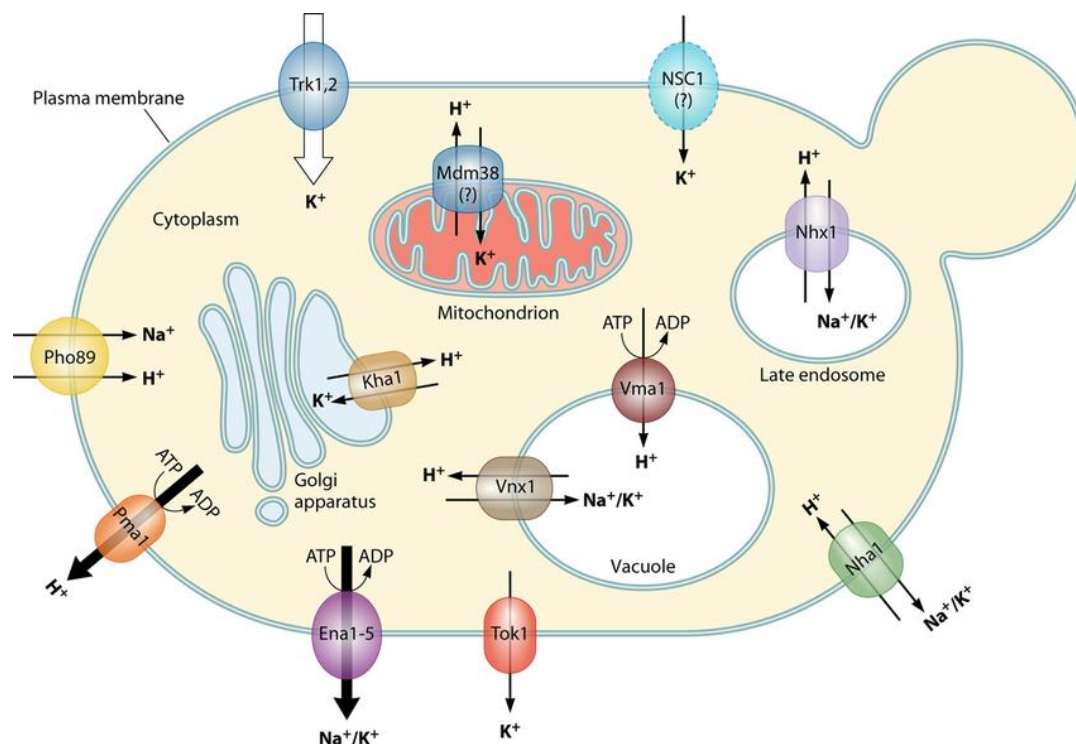
Kvasinka *S. cerevisiae* se s přebytečnými K⁺ kationty vypořádává prostřednictvím jejich ukládání do vnitřních organel, jako jsou mitochondrie, vakuola a Golgiho aparát, která je zprostředkována příslušnými transportéry. Mezi tyto transportéry patří Kha1, Mkh1/Mdm38, Vhc1 a nespécificky také pomocí transportérů Vnx1 a Nhx1, které ovšem primárně transportují Na⁺ kationty do vakuoly a endosomů. Liší se v lokalizaci, velikosti a struktuře, přičemž Kha1 se nachází v membráně Golgiho aparátu, Mkh1/Mdm38 v mitochondriální membráně a Vhc1 najdeme v membráně vakuoly. Všechny tyto transportéry se podílejí na regulaci homeostáze K⁺ kationtů, regulaci pH v příslušných organelách a udržují optimální membránový potenciál (Nowikovskiy *et al.*, 2004; Cagnac *et al.*, 2007; Petrezselyova, Kinclova-Zimmermannova a Sychrova, 2013). Kromě sekvestrace do vakuol se kvasinka *S. cerevisiae* vypořádává s přebytkem K⁺ kationtů jejich

aktivním exportem z buněk prostřednictvím transportérů Nha1 a Ena lokalizovaných v plazmatické membráně. Kanál Tok1 exportuje K^+ kationty pouze, když je tím potřeba regulovat membránový potenciál. Aktivita tohoto kanálu je regulována extracelulární koncentrací K^+ kationtů a membránovým potenciálem, jelikož jeho otevření a následný výtok těchto kationtů z buněk přispívá k obnově optimální hladiny membránového potenciálu (Maresova *et al.*, 2006; Ariño, Ramos a Sychrova, 2019).

Mutantní kmeny kvasinky *S. cerevisiae* vykazují rozdílnou toleranci vůči extracelulární koncentraci K^+ kationtů v médiu, jelikož nemají exportéry těchto kationtů, proto je nutné kultivovat tyto kmeny při vyšší koncentraci draslíku. Pokud kvasinka *S. cerevisiae* nemá dostatek K^+ kationtů dochází ke zpomalení růstu. Na tento nedostatek se buňka musí adaptovat např. zvýšením aktivity transportérů a omezením některých životních funkcí (např. dělení, syntéza proteinů), přičemž obvykle trvá nějakou dobu, než se přizpůsobí těmto specifickým podmínkám.

4. Transportéry kationtů v kvasinkách

Hlavním rozdílem mezi kvasinkovou buňkou a lidskými buňkami je v generování protonového gradientu, který kvasinky generují pomocí H^+ - ATPázy Pma1. Ta pomáhá regulovat intracelulární pH v buňkách, vytváří membránový potenciál a tím přispívá k udržování homeostáze K^+ a Na^+ kationtů v buňkách tím, že poskytuje energii pro transport těchto kationtů prostřednictvím dalších transportérů. Všechny tyto transportéry a jejich lokalizace, včetně směru transportu kationtů je znázorněna na obrázku 5.



Obrázek 1: Hlavní transportéry jednomocných kationtů v kvasince *S. cerevisiae*, včetně všech v té době známých transportérů ve vnitrobuněčných organelách – Vnx1, Vma1, Nhx1, Mkh1/Mdm38 a Kha1. Všechny transportéry jsou popsány v textu. Převzato od: Arino 2010.

4.1. Transportéry sodných kationtů v plazmatické membráně

Sodné kationty vstupují do buněk *S. cerevisiae* ve většině případů nespecificky přes K^+ transportéry, pokud je vyšší extracelulární koncentrace Na^+ kationtů (Bañuelos *et al.*, 1998). Jedinou dosud známou výjimkou je symportér Pho89, který transportuje Na^+ kationty do buňky při zásaditém pH a zároveň katalyzuje příjem fosfátů. Gradient Na^+ kationtů vytvořený ATPázou Ena tu slouží jako zdroj energie pro transport fosfátů proti jejich koncentračnímu gradientu. Symportér Pho89 není za běžných laboratorních podmínek exprimován. Sodné kationty jsou rovněž transportovány dovnitř buněk pomocí nízko afinitního kanálu iontů NSC1 (Yenush, 2016). Kanál NSC1 je kromě jednomocných kationtů schopný transportovat i Ca^{2+} kationty s nízkou selektivitou/preferencí vůči některému z těchto kationtů (Bihler, Slayman a Bertl, 1998).

Hlavní transportní systémy, které se podílejí na odstranění toxických Na^+ iontů z buněk kvasinky *S. cerevisiae* jsou Na^+/K^+ ATPázy Ena a Na^+/H^+ antiporter Nha1 (Bañuelos *et al.*, 1998; Ariño, Ramos a Sychrova, 2019).

4.1.1. Antiporter Nha1

Antiporter Nha1 se nachází v plazmatické membráně kvasinky *S. cerevisiae*, funguje jako dimer a zajišťuje protichůdný transport Na^+ a K^+ (i Li^+ a Rb^+) kationtů za protony (Ariño, Ramos a Sychrová, 2010; Ariño, Ramos a Sychrova, 2019). Pro export Na^+ kationtů ven z buňky využívá Nha1 protonový gradient generovaný H^+ -ATPázou Pma1 (Ariño, Ramos a Sychrova, 2019). Antiporter Nha1 je součástí velmi početné rodiny Na^+/H^+ antiporterů a může transportovat i jiné kationty jako jsou např. Li^+ , K^+ a Rb^+ kationty (Ariño, Ramos a Sychrova, 2019). Antiporter Nha1 je tvořen 985 aminokyselinami, 12 transmembránovými doménami a obsahuje dlouhý C-konec, který je tvořen 6 konzervovanými oblastmi, tvoří 56 % celkové délky proteinu Nha1 a nachází se uvnitř buňky. Homology antiporteru Nha1 můžeme najít v živočišných i rostlinných buňkách, jejichž sekvence C-konce je do jisté míry podobná napříč různými druhy, a jak již bylo zmíněno výše, konkrétní sekvence na C-konci jsou evolučně konzervovány (Papouskova *et al.*, 2021). Je zodpovědný za odstranění přebytku Na^+ kationtů z buněk a zároveň se podílí na regulaci intracelulárního pH. Bylo prokázáno, že delece Nha1 ovlivňuje intracelulární pH, membránový potenciál a má vliv na adaptaci vůči osmostickému stresu a stresu způsobenému zásaditým pH (Sychrová *et al.*, 1999).

4.1.2. Transportéry Ena

Genom kvasinky *S. cerevisiae* zahrnuje celou řadu tandemových kopií genů transportérů Ena, které jsou identické, nebo velmi podobné a jejich počet se liší v rámci různých kmenů kvasinky *S. cerevisiae* (Ariño, Ramos a Sychrova, 2019). Transportéry Ena patří mezi Na^+ , K^+ - ATPázy a zajišťují výstup Na^+ (K^+ , Li^+ a Rb^+) kationtů pomocí hydrolýzy molekul ATP (Proft a Serrano, 1999; Yenush, 2016). Transportér Ena1 je tvořen 1 091 aminokyselinami a za standardních podmínek růstu se vyskytuje v buňkách v poměrně malém množství. Je nezbytný pro přežití při zvyšující se hladině Na^+ kationtů v okolí, nebo příliš vysokém extracelulárním pH. Jako odpověď na vysoké koncentrace Na^+ , Li^+ kationtů, nebo zásadité pH mimo buňku dochází k expresi genu *ENA1* (Garcia-deblas *et al.*, 1993; Wieland *et al.*, 1995), který kóduje Na^+ , K^+ - ATPázu Ena1. Význam transportérů Ena můžeme názorně vidět při jeho odstranění důsledkem této delece je totiž zvýšená senzitivita buňky vůči Na^+ a Li^+ kationtům (Ariño, Ramos a Sychrova, 2019).

4.2 Transportéry draselných kationtů v plazmatické membráně

Jak již bylo popsáno výše, draselné kationty zastávají celou řadu funkcí, které kvasinkám *S. cerevisiae* umožňují růst a přežít. Aby se kvasinky mohly se změnami koncentrace K^+ kationtů lépe vyrovnat a adaptovat se na ně, disponují mnoha transportními systémy (viz obrázek 5), které se podílejí na udržení homeostáze těchto kationtů a intracelulárního pH. Spolu s transportéry Trk byly v nekonvenčních kvasinkách identifikovány dva další transportéry K^+ kationtů – symportér Hak (high affinity K^+ transporter) a ATPáza Acu (alkali cation uptake), které se však nevyskytují v buňkách kvasinky *S. cerevisiae* (Ramos, Ariño a Sychrová, 2011). Proto se v této kapitole budu zabývat pouze transportéry Trk a dalšími transportéry K^+ kationtů v kvasinkách *S. cerevisiae*. Protonové ATPázy jako je Pma1 a V-ATPázy, které vytvářejí zdroj energie pro sekundární transportéry Na^+ a K^+ kationtů a tím zajišťují udržení optimálního membránového potenciálu na vnitřních organelách, jako je vakuola a Golgiho aparát (Yenush, 2016).

4.2.1 Transportéry Trk1 a Trk2

Trk1 a Trk2 patří mezi nejdůležitější transportéry K^+ kationtů v kvasinkách, které se podílejí na udržení homeostáze těchto kationtů v buňkách (Herrera *et al.*, 2014). Transportér Trk1 je tvořen 1 285 aminokyselinami a Trk2 je tvořen 889 aminokyselinami, přičemž se vzájemně liší v délce svých prvních cytosolických smyček. Transportér Trk1 je tetramer, tj. je tvořen čtyřmi MPM doménami, z nichž každá se skládá ze dvou transmembránových M-helixů, jednotlivé MPM domény jsou propojené intracelulárními a extracelulárními smyčkami (Zayats *et al.*, 2015; Masaryk *et al.*, 2023). Tento transportér obsahuje první cytosolickou smyčku o délce 642 aminokyselin a Trk2 má tuto smyčku tvořenou 326 aminokyselinami. Oba transportéry jsou exprimovány geny *TRK1* a *TRK2*, které kódují příslušné proteiny (Yenush, 2016). Transportér Trk1 je nezbytný pro transport K^+ kationtů, respektive jejich vstup do buňky, stejně jako Trk2. Transportér Trk2 hraje menší roli v akumulaci K^+ kationtů v rostoucích buňkách, jeho význam je však větší při specifických stresových podmínkách, jako je např. nízká koncentrace K^+ kationtů a stres způsobený nižším pH (Zimmermannova *et al.*, 2021). Transportér Trk2 je zároveň mnohem důležitější pro přežití buněk než Trk1 při glukózou indukované buněčné smrti (glucose-induced cell death), přičemž

nejvíce odolný vůči tomuto procesu byl kmen *S. cerevisiae* BY4741, naopak mutantní kmeny BYT1 (delece *Trk1*) měly výrazně nižší míru přežití v porovnání s kmeny BYT2, které tento fenotyp mají (Dušková *et al.*, 2021).

Bylo zjištěno, že transportér *Trk1* postupně upravuje svoji afinitu v závislosti na extracelulárním množství K^+ kationtů, přičemž místo dvou poloh (low affinity a high affinity – tzv. dual affinity model) postupně přechází od low affinity k high affinity stavu. Transportér *Trk1* zároveň přispívá k regulaci membránového potenciálu (Masaryk a Sychrová, 2022). Podobnost mezi transportérem *Trk1* a *Trk2* potvrzuje i fakt, že *TRK2* kóduje protein, který je z 55 % identický k *Trk1*. Důležité je ovšem to, že delece *TRK1* a *TRK2* není pro kvasinku *S. cerevisiae* letální (Yenush, 2016), nicméně například kmen BYT12, který má deletované oba transportéry *Trk*, nebude růst v médiu s menší koncentrací K^+ kationtů, proto musíme přidat více KCl do růstového média (Ko a Gaber, 1991).

4.2.2. Kanál Tok1

Na odstraňování K^+ kationtů z kvasinek se kromě transportérů K^+ kationtů podílí kanál Tok1 specifický pro K^+ kationty, a zároveň je jediným popsáním kanálem v buňkách kvasinky *S. cerevisiae*, který transportuje pouze draslík (Yenush, 2016). Gen *TOK1* kóduje protein, který je tvořen 691 aminokyselinami. Tok1 je kanál tvořený dvěma MPM sekvencemi, které tvoří homodimery (Ariño, Ramos a Sychrova, 2019). Aktivita Tok1 kanálu je regulována extracelulární koncentrací K^+ kationtů a membránovým potenciálem, jelikož depolarizace membrány vede k otevření tohoto kanálu a výtoku K^+ kationtů, čímž pravděpodobně dochází k obnovení optimálního membránového potenciálu (Maresova *et al.*, 2006; Ariño, Ramos, a Sychrova, 2019). Stále máme poměrně málo informací o Tok1, jelikož nebylo publikováno příliš mnoho zásadních informací o tomto kanálu, tudíž by bylo potřeba detailněji prozkoumat všechny funkce a fyziologické efekty kanálu Tok1.

4.3. Intracelulární transportéry Na^+ a K^+ kationtů v kvasinkách

Nhx1 transportuje Na^+ (K^+ , Li^+)/ H^+ a nachází se v membránách pozdního endosomu a vakuoly (Yenush, 2016). Protein Nhx1 je tvořen 633 aminokyselinami a přispívá k udržování optimálního pH uvnitř endosomů řízením ukládání K^+ (nebo Na^+) kationtů výměnou

za protony. Nhx1 může transportovat Na⁺ i K⁺ kationty. Zároveň se Nhx1 antiporter podílí na ukládání toxických kationtů nebo přebytečných K⁺ kationtů do vakuoly prostřednictvím endosomů, které splynou s její membránou (Bihler, Slayman a Bertl, 1998). Mutace v genu pro Nhx1 antiporter vede ke zvýšené citlivosti vůči zásaditému pH, vyšší koncentraci solí, poklesu cytosolického pH a defektům ve vezikulárním transportu (Brett *et al.*, 2005). Stále však nemáme příliš mnoho informací o struktuře a regulaci tohoto transportéru, včetně jeho adaptace na osmotický stres (Nass a Rao, 1999).

Antiporter Vnx1 se podílí na transportu Na⁺ kationtů přes membránu vakuoly. Protein Vnx1 je tvořen 908 aminokyselinami a předpokládá se, že obsahuje 13 transmembránových domén. Hlavní úlohou tohoto antiporteru je transport K⁺ kationtů do vakuoly a jejich sekvestrace výměnou za protony (Yenush, 2016). Transport přebytečných K⁺ kationtů do vakuoly je poháněn na základě protonového gradientu, který generuje H⁺ - ATPáza Vma. Vnx1 se zároveň podílí na regulaci homeostáze a pH uvnitř vakuol a uvnitř buněk (Cagnac *et al.*, 2007).

Kha1 patří mezi nejméně charakterizované K⁺/H⁺ antiportery kvasinky *S. cerevisiae*, jejichž homology najdeme i v bakteriích. Kha1 antiporter je tvořen 873 aminokyselinami, a nachází se v membráně Golgiho aparátu a zde se podílí na akumulaci K⁺ kationtů. Senzitivita vůči vysokému pH u tohoto mutanta může být kompenzována zvýšením extracelulární koncentrace K⁺ kationtů. Ačkoliv nemáme příliš mnoho informací o transportní aktivitě tohoto antiporteru, předpokládá se, že Kha1 se podílí na regulaci homeostáze K⁺ kationtů a pH v Golgiho aparátu (Yenush, 2016).

Vhc1 transportuje K⁺ a Cl⁻ ionty do vakuoly, kde dochází k ukládání přebytečných K⁺ a Cl⁻ iontů v kvasinkách *S. cerevisiae*. Zároveň se podílí na udržování homeostáze K⁺ kationtů v organelách, ale jeho aktivita je nezávislá na pH. Protein Vhc1 je tvořen 1 120 aminokyselinami (Petrezselyova, Kinclova-Zimmermannova a Sychrova, 2013), stále máme však poměrně málo informací o transportu Cl⁻ iontů zprostředkovaným Vhc1, stejně jako neznáme mechanismy regulace, proto by bylo potřeba provést více experimentů, ve kterých by se otestovala aktivita tohoto transportéru u různých mutantních kmenů.

Transportér Mkh1/Mdm38 je tvořen 573 aminokyselinami a nachází se v mitochondriální membráně (Dimmer *et al.*, 2002; Nowikovskiy *et al.*, 2004), kde se podílí

na výměně K^+ kationtů za protony. Zároveň se podílí na regulaci K^+ homeostáze uvnitř mitochondrií (Nowikovskiy *et al.*, 2004), interaguje s ribozómy, ale není nezbytně potřebný pro syntézu mitochondriálních proteinů. Podílí se ovšem na transportu proteinů (Frazier *et al.*, 2006). Mutantní kmen bez tohoto transportéru vykazuje zvýšené množství K^+ kationtů v mitochondriích a nižší membránový potenciál (Zotova *et al.*, 2010).

5. Mechanismy regulace proteinů

Regulace transportních proteinů v eukaryotických buňkách je zásadní pro regulaci homeostáze kationtů uvnitř buňky a jako reakce na vnitřní i vnější signály. Tento proces probíhá na několika úrovních transkripce a translace, včetně post-transkripčních a post-translačních úprav. Na úrovni transkripce je genová exprese regulována pomocí transkripčních faktorů, které se váží na specifické sekvence DNA, čímž aktivují nebo inhibují transkripci cílového genu. Post-transkripční regulace zahrnuje více procesů, jako je např. alternativní splicing, stabilita mRNA a silencing genů zprostředkovaný miRNA, přičemž všechny tyto procesy se podílejí na četnosti a aktivitě mRNA molekul. Během translace je efektivita a přesnost syntézy proteinů regulována dostupností ribozómů, iniciačními faktory a RNA vazebnými proteiny. Post-translační modifikace zahrnující fosforylaci, acetylaci, ubikvitinaci a proteolýzou regulují funkci proteinů, jejich lokalizaci a stabilitu (Alberts, 2017).

5.1. Regulace transportérů Ena

Všechny transportéry kationtů alkalických kovů v plazmatické membráně kvasinky *S. cerevisiae*, kromě transportérů Ena, jsou exprimovány konstitutivně a na nízké úrovni, takže jejich regulace probíhá na post-translační úrovni. Fosforylace patří mezi nejvíce studované post-translační modifikace (PTM), jelikož se podílí na regulaci mnoha buněčných procesů a zároveň hraje důležitou roli během reakce buňky na některé procesy, jako je např. osmotický stres (Ptacek *et al.*, 2005; Lin *et al.*, 2021) či zvýšená koncentrace solí uvnitř i vně buňky. Transportéry Ena kvasinky *S. cerevisiae* jsou regulovány na úrovni transkripce. Kvasinky *S. cerevisiae* se s relativně nízkou extracelulární koncentrací NaCl (nad 0,4 M), která vyvolá osmotický stres v buňce, vypořádávají aktivací signální dráhy HOG (high-osmolarity glycerol) (Ariño, Ramos a Sychrova, 2019). Aktivace této dráhy vede k fosforylaci a aktivaci Hog1 MAP (mitogen-activated protein) kinázy, která reguluje aktivitu

antiporteru Nha1, umožňuje krátkodobé snížení intracelulární koncentrace toxických kationtů a následně se podílí na indukci exprese genu ENA1. Zároveň bylo u *hog1* mutantních kmenů pozorováno podstatné snížení transkripční aktivity genu ENA1 v odpovědi na osmotický stres (způsobený NaCl; Márquez a Serrano, 1996). Celkově je MAP kináza Hog1 signální dráhy HOG hlavním komponentem, který zprostředkovává buněčnou odpověď na hyperosmotický stres (Brewster *et al.*, 1993).

5.2. Fosfatázy a kinázy v regulaci transportérů *S. cerevisiae*

Při fosforylaci dochází k transferu terminálního fosfátu ATP na serin, threonin nebo na aminoacylový zbytek na tyrosinu, naopak fosfatázy fungují opačným způsobem, tj. odštěpují terminální fosfát ATP (Fraschini, Raspelli a Cassani, 2012). Fosforylační stav proteinu je velmi přísně regulovaný a je určen aktivitou proteinových kináz a fosfatáz uvnitř buňky. Ačkoliv kináz bylo identifikováno poměrně hodně (u člověka nebo kvasinky *S. cerevisiae*), fosfatáz je podstatně méně (Lyons *et al.*, 2018). V kvasince *S. cerevisiae* jsou jednotlivé fosfatázy rozděleny do několika rodin, které obsahují fosfatázy s podobným mechanismem. Celé rozdělení všech dosud známých fosfatáz je velmi komplexní a některé fosfatázy jsou funkčně příbuzné spíše jiným fosfatázám z úplně jiné skupiny. Defosforylační aktivita fosfatáz je zároveň regulována v závislosti na aktivitě kináz, aby nedošlo k narušení některých buněčných procesů, jako je buněčné dělení. Fosfatáza Ppz1 ovlivňuje regulaci homeostáze jednomocných kationtů, jelikož její nadměrná exprese zvýší aktivitu antiporteru Nha1, což ovlivní růst a přežití buňky. Tento defekt se ve fyziologii kvasinky *S. cerevisiae* dá potlačit delecí genu *NHA1* (Albacar *et al.*, 2021).

Protein kinázy ovlivňují fosforylační stav proteinů, jejichž aktivita je tak přímo závislá na regulaci prostřednictvím kináz a fosfatáz, které regulují aktivitu transportních proteinů (Ficarro *et al.*, 2002). Zároveň je odhadováno, že fosforylují přibližně jednu třetinu všech proteinů u lidí a kvasinek. Kinázy pro svoji správnou funkci potřebují rozpoznat aktivační místo substrátu, na které se mohou navázat. Aktivní místo kináz se skládá z aktivační a katalytické smyčky, mezi které se může navázat substrát, čímž dojde k jeho aktivaci (Fraschini, Raspelli a Cassani, 2012). V současnosti bylo identifikováno a podle funkce a aktivity klasifikováno mnoho kináz v kvasinkách *S. cerevisiae* (viz výše), přesto stále najdeme některé příklady, které nejsou příliš detailně popsány. V této kapitole se budu zabývat

především NPR/Hal rodinou kináz, jejíž zástupce můžeme najít v kvasince *S. cerevisiae* a které se podílejí na regulaci homeostáze K^+ a Na^+ kationtů.

NPR/Hal je rodina kináz, která se podílí na růstu a vývoji kvasinky *S. cerevisiae* a obsahuje 9 kináz. Hlavní funkcí těchto kináz je regulace transportu živin přes plazmatickou membránu a udržování optimální hodnoty membránového potenciálu (Goossens *et al.*, 2000; Tumolo *et al.*, 2020).

5.2.1. Kináza Npr1

Kináza Npr1 je nejlépe funkčně popsaným členem NPR/Hal rodiny kináz a vykazuje pleiotropní roli v regulaci aminokyselinových permeáz, přičemž hlavní funkcí je sorting a stabilizace těchto transportérů na plazmatickou membránu (Vandenbol, Jauniaux a Grenson, 1990; Schmidt *et al.*, 1998; De Craene, Soetens a André, 2001). Tato kináza je součástí signální dráhy TORC1-Sit4-Npr1, která kontroluje stabilitu membránových transportérů živin, jejich transport a endocytózu, přičemž regulace této signální dráhy je velmi komplexní a stále zůstávají některé regulační mechanismy a fosforylační/defosforylační cíle neznámé. Aktivita kinázy Npr1 je regulována fosfatázou Sit4 v komplexu TORC1 a během nepřítomnosti této fosfatázy zůstává Npr1 neaktivní (Jacinto *et al.*, 2001).

5.2.2. Kinázy Ptk1 a Ptk2

Kinázy Ptk1 a Ptk2 se podílejí na regulaci transportu polyaminů přes membránu. Polyaminy (putrescin, spermidin a spermin) jsou polykationty reagující se záporně nabitými molekulami, jako je např. DNA, RNA a proteiny, zároveň se podílejí na buněčném růstu, přežití buňky a biosyntéze makromolekul (Miret *et al.*, 1992; Kim *et al.*, 2017). Kináza Ptk2 je hlavním regulátorem transportéru polyaminů Dur3, který fosforyluje. V porovnání s kinázou Ptk2, která je hlavním determinantem vysoko afinitního příjmu polyaminů, je kináza Ptk1 exprimována na nízké úrovni a podílí se pouze na nízkoafinitním, nízkokapacitním příjmu polyaminů do buňky. Zároveň se předpokládá, že případné mírné důsledky způsobené delecí *PTK1* v buňkách na příjem polyaminů do buněk jsou maskovány aktivitou kinázy Ptk2 (Uemura, Kashiwagi a Igarashi, 2007). Stále je však kináza Ptk1 a její podíl na regulaci transportu polyaminů nepříliš dobře prozkoumána.

5.2.3. Kinázy Hal4, Hal5 a Kkq8

Kinázy Hal4 a Hal5 se podílejí na regulaci transportu jednomocných kationtů do buněk, přičemž nadměrná exprese těchto kináz vede ke zvýšení tolerance kvasinky *S. cerevisiae* vůči Na⁺ a Li⁺ kationtům a naopak snížená aktivita těchto kináz zvyšuje senzitivitu vůči těmto kationtům. Tyto fenotypové mutanty jsou závislé na transportérech Trk1 a Trk2 a transportu K⁺ kationtů do buněk, přičemž *hal4 hal5* a *trk1 trk2* mutanty (double mutants pro kinázu i transportér) vykazují nižší účinnost transportu těchto kationtů do buněk a vyšší senzitivitu vůči toxickým kationtům, jako je např. Na⁺, Li⁺ a Ca²⁺ a nižšímu pH, což ovlivňuje celkový růst buněk (Mulet *et al.*, 1999). Kináza Hal5 spolu s dalšími kinázami (Snf1, Sky1 a Ptk2) se pravděpodobně nějakým způsobem podílí na regulaci transportéru Trk1, přičemž delece kinázy Hal4 a Hal5 způsobí destabilizaci transportérů iontů a živin. Zároveň kinázy Hal fungují jako regulátory endocytózy a vezikulárního transportu (Tumolo *et al.*, 2020). Delece kinázy Hal5 rovněž způsobí rychlou internalizaci endosomů do vakuol (Tumolo *et al.*, 2020). Kinázy Hal4 a Hal5 jsou klíčovými determinanty ovlivňujícími homeostázi kationtů a toleranci vůči zvýšené koncentraci solí (Antunes a Sá-Correia, 2022).

Kináza Kkq8 je nejméně charakterizovanou z rodiny NPR/Hal kináz. Přestože je fylogeneticky nejvíce podobná kináze Hal5, její nadměrná exprese neovlivňuje toleranci kvasinky vůči solím (Mira *et al.*, 2010; Antunes a Sá-Correia, 2022). Absence kinázy Kkq8 potlačuje membránovou lokalizaci transportérů pro export toxických látek Pdr5 a Yor1 v buňkách kultivovaných s antifungicidním a PDR substrátem atorvastatinem (Yibmantasiri *et al.*, 2014). Delece kinázy Kkq8 zároveň hraje roli v senzitivě buněk kvasinky *S. cerevisiae* vůči antifungicidním látkám, jako je clotrimazol a nystatin (Barreto *et al.*, 2011).

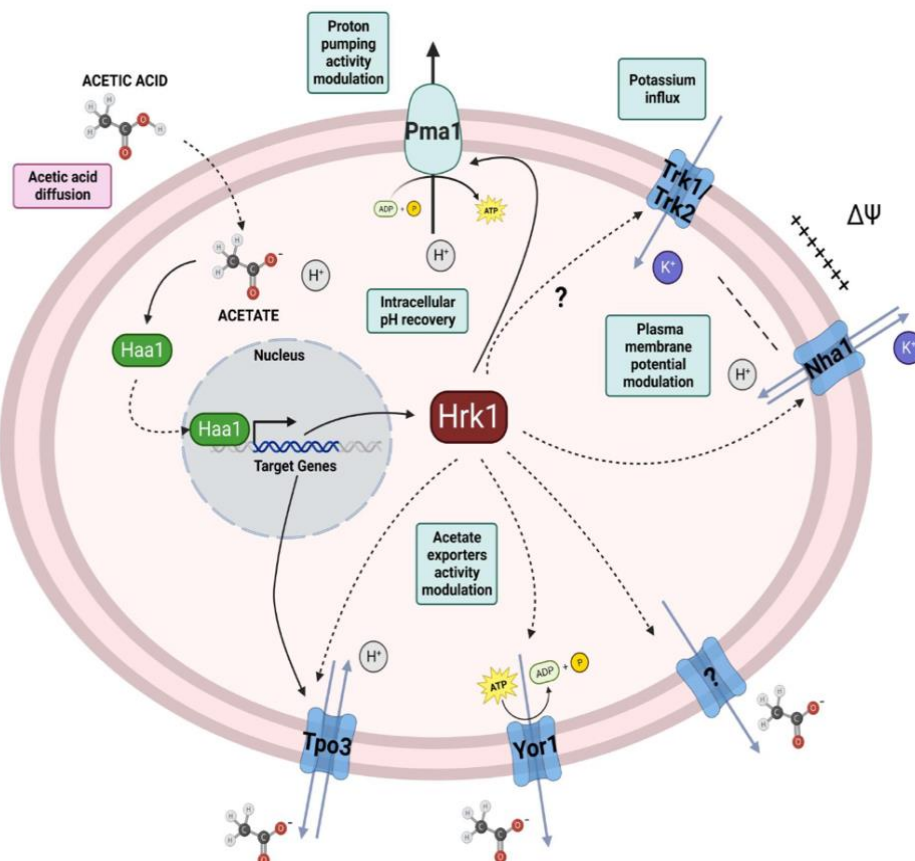
5.2.4. Kináza Rtk1

Kinázy Rtk1 a Kkq8 jsou z velké části málo charakterizované, přičemž se předpokládá, že kináza Rtk1 se podílí na biogenezi peroxisomů. Přestože delece této kinázy vede ke sníženému množství větších peroxisomů oproti běžnému stavu, tyto morfologické defekty neovlivňují jejich funkčnost (Saleem *et al.*, 2008; Antunes a Sá-Correia, 2022). Delece kinázy Rtk1 nebo Ptk2 ovlivní regulaci homeostáze lipidů, která je velmi dynamická a zároveň je esenciálním mechanismem pro adaptaci kvasinkových buněk na environmentální faktory, jako je např. extracelulární koncentrace solí (Da Silveira Dos Santos *et al.*, 2014).

Je prokázáno, že kináza Rtk1 je spojena s tolerancí kvasinky *S. cerevisiae* vůči kyselině octové, jelikož nadměrná exprese této kinázy vede ke zvýšení tolerance vůči této kyselině, zlepšení produkce ethanolu a lepší schopnost fermentace při kultivaci kvasinek v médiu obsahujícím inhibiční směs simulovanou hydrolyzátem kukuřičných stonků (Ye *et al.*, 2022).

5.2.5. Kináza Hrk1

Kináza Hrk1 patří do rodiny NPR/Hal kináz a je klíčovým faktorem v toleranci kvasinky *S. cerevisiae* vůči kyselině octové (Guerreiro *et al.*, 2017; Antunes *et al.*, 2023). Kvasinka využívá různé signální dráhy (jako např. signální dráha Hog), aby se adaptovala na stres způsobený kyselinou octovou (Antunes *et al.*, 2023), která se používá především v potravinářském průmyslu ke konzervování potravin a v biotechnologiích. Kináza Hrk1 reguluje aktivitu H^+ - ATPázy Pma1 v reakci na metabolismus glukózy zvýšením její afinity vůči ATP, což je pravděpodobně důsledek fosforylace serinu (Ser) na pozici 899. H^+ - ATPáza Pma1 je velmi důležitá pro různé buněčné procesy, jak již bylo zmíněno v kapitole 3, zároveň je také regulována kinázou Ptk2, která má na aktivitu H^+ - ATPázy Pma1 větší vliv a stejně jako kináza Hrk1 patří do NPR/Hal skupiny kináz (Goossens *et al.*, 2000). Fosforylačních cílů kinázy Hrk1 je ovšem více, včetně některých již známých



Obrázek 2: Schématické znázornění transportérů, které jsou regulovány kinázou Hrk1 v kvasince *Saccharomyces cerevisiae*. Převzato od: Antunes 2023.

transportérů, přesto stále nejsou známy všechny transportéry, které tato kináza reguluje, a také vliv, který má na jejich transportní aktivitu. Některé již známé cíle fosforylační aktivity kinázy Hrk1 byly odhaleny pomocí dvou fosfoproteomických analýz (Guerreiro *et al.*, 2017; Jiaming Li *et al.*, 2019). Schématický model předpokládaných transportérů, které ovlivňuje kináza Hrk1, je znázorněn na obrázku 6.

Také transportéry Tpo3, Tpo4 a Qdr2, které patří mezi tzv. multidrug resistance (MDR) transporters major facilitator superfamily (MFS; (Vargas *et al.*, 2007; Sá-Correia a Godinho, 2022), vykazují změny na úrovni fosforylace v závislosti na kináze Hrk1 v reakci na stres způsobený kyselinou octovou, v porovnání s normálními podmínkami (Guerreiro *et al.*, 2017).

Z experimentů Antunes *et al.* vyplývá, že kmeny s deletovanou kinázou Hrk1 mají sníženou schopnost obnovovat intracelulární pH na optimální fyziologické hodnoty, což v důsledku znamená nižší maximální hodnoty intracelulárního pH v porovnání s kmenem BY4741 kvasinky *S. cerevisiae*. Z těchto výsledků vyplývá, že exprese *HRK1* se podílí na udržování optimálních hodnot pH při stresu způsobeném kyselinou octovou, což by mohlo přímo souviset s aktivitou kinázy Hrk1 jako determinantem tolerance kvasinky *S. cerevisiae* vůči kyselině octové a s udržováním optimálních hodnot intracelulárního pH (Antunes *et al.*, 2023).

Kromě H⁺ - ATPázy Pma1 kináza Hrk1 moduluje aktivitu antiporteru Nha1, přičemž je schopná zlepšit růst kmenů s delecí *HRK1* v porovnání s nemutantním kmenem (BY4741) za normálních podmínek i při stresu způsobeném kyselinou octovou. Zároveň bylo pozorováno zlepšení růstu mutantních kmenů při limitní koncentraci K⁺ kationtů v médiu. Předpokládá se, že kináza Hrk1 se podílí také na regulaci transportérů Trk1 a Trk2, které transportují K⁺ kationty dovnitř buňky. Tuto hypotézu podporují výsledky, které naznačují podíl kinázy Hrk1 na udržování homeostáze K⁺ kationtů za normálních podmínek i při solném stresu a stresu způsobeném kyselinou octovou (Antunes *et al.*, 2023). Stále máme však poměrně málo informací, co se týče struktury kinázy Hrk1 a její regulační aktivity, včetně všech možných transportérů, které by mohla fosforylovat.

6. Závěr

Homeostáze jednomocných kationtů je velmi důležitý proces z hlediska fyziologie a růstu buněk, jelikož i mírná odchylka od standardních hodnot intracelulární koncentrace kationtů má vliv na fungování buněk i celého organismu, což bylo blíže popsáno v kapitole 3. Na udržování optimálních hodnot kationtů se podílí mnoho proteinů, které fungují jako transportéry v plazmatické membráně a v membránách vnitřních organel. Jejich transportní aktivita je závislá na typu transportéru a následný podíl na regulaci homeostáze jednomocných kationtů se dále odvíjí od mechanismu transportu. Transportéry jednomocných kationtů v eukaryotických buňkách se podílejí na udržování optimální koncentrace kationtů uvnitř buněk a organel. Kvasinky slouží jako vhodný model pro zkoumání vlastností jednotlivých transportérů a to nejen těch pro kvasinky vlastních, ale i pro charakterizaci heterologně exprimovaných transportérů jednomocných kationtů vyšších eukaryot. Pro správné fungování buněk a jejich růstu je tak důležitá důsledná regulace aktivity všech transportních systémů prostřednictvím různých kináz a fosfatáz, aby nedocházelo k akumulaci některých škodlivých kationtů (Na^+ a Li^+) uvnitř buněk a zároveň aby mohly být odstraňovány nadbytečné kationty K^+ .

Některé regulační mechanismy buňky, jako je např. regulace transportérů kationtů a jejich cílových transportních proteinů nejsou dosud příliš dobře prozkoumány. Zároveň není příliš mnoho informací o funkci některých kináz a fosfatáz v kvasince *S. cerevisiae*. Cílem této práce bylo shrnout dosavadní poznatky o membránových transportérech v buňkách kvasinek a mechanismy jejich regulace se zaměřením na fosfatázy a kinázy kvasinky *S. cerevisiae*. Zároveň jsem chtěla více přiblížit důležitost homeostáze K^+ a Na^+ kationtů, včetně možných problémů, které doprovází nedostatek nebo naopak nadbytek těchto kationtů uvnitř buněk a následný vliv této nerovnováhy na fungování buněk a celého organismu.

Seznam použité literatury

Sekundární citace jsou označeny hvězdičkou *

*Adams, Eri, a Ryoung Shin. 2014. „Transport, Signaling, and Homeostasis of Potassium and Sodium in Plants". *Journal of Integrative Plant Biology* 56 (3): 231–49. <https://doi.org/10.1111/jipb.12159>.

Albacar, Marcel, Lenka Sacka, Carlos Calafi, Diego Velázquez, Antonio Casamayor, Joaquín Ariño, a Olga Zimmermannova. 2021. „The Toxic Effects of Ppz1 Overexpression Involve Nha1-Mediated Deregulation of K⁺ and H⁺ Homeostasis". *Journal of Fungi* 7 (12): 1010. <https://doi.org/10.3390/jof7121010>.

Alberts, B. 2017. *Molecular Biology of the Cell*. W.W. Norton. <https://books.google.cz/books?id=jK6UBQAAQBAJ>.

Alepuz, Paula M, Dina Matheos, Kyle W Cunningham, a Francisco Estruch. 1999. „The Saccharomyces Cerevisiae RanGTP-Binding Protein Msn5p Is Involved in Different Signal Transduction Pathways". *Genetics* 153 (3): 1219–31. <https://doi.org/10.1093/genetics/153.3.1219>.

Álvarez-Aragón, Rocío, Rosario Haro, Begoña Benito, a Alonso Rodríguez-Navarro. 2016. „Salt Intolerance in Arabidopsis: Shoot and Root Sodium Toxicity, and Inhibition by Sodium-plus-Potassium Overaccumulation". *Planta* 243 (1): 97–114. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2400-7>.

Antunes, Miguel, Deepika Kale, Hana Sychrová, a Isabel Sá-Correia. 2023. „The Hrk1 kinase is a determinant of acetic acid tolerance in yeast by modulating H⁺ and K⁺ homeostasis". *Microbial Cell* 10 (12): 261–76. <https://doi.org/10.15698/mic2023.12.809>.

*Antunes, Miguel, a Isabel Sá-Correia. 2022. „The NPR/Hal Family of Protein Kinases in Yeasts: Biological Role, Phylogeny and Regulation under Environmental Challenges". *Computational and Structural Biotechnology Journal* 20:5698–5712. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.10.006>.

*Ariño, Joaquín, José Ramos, a Hana Sychrová. 2010. „Alkali Metal Cation Transport and Homeostasis in Yeasts". *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 74 (1): 95–120. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00042-09>.

*Ariño, Joaquín, José Ramos, a Hana Sychrova. 2019. „Monovalent Cation Transporters at the Plasma Membrane in Yeasts". *Yeast* 36 (4): 177–93. <https://doi.org/10.1002/yea.3355>.

Bañuelos, Maria A., Hana Sychrová, Claudine Bleykasten-Grosshans, Jean-Luc Souciet, a Serge Potier. 1998. „The Nha1 Antiporter of Saccharomyces Cerevisiae Mediates Sodium and Potassium Efflux". *Microbiology* 144 (10): 2749–58. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-10-2749>.

Barreto, Lina, David Canadell, Silvia Petrezsélyová, Clara Navarrete, Lydie Marešová, Jorge Pérez-Valle, Rito Herrera, et al. 2011. „A Genomewide Screen for Tolerance to Cationic Drugs Reveals Genes Important for Potassium Homeostasis in Saccharomyces Cerevisiae". *Eukaryotic Cell* 10 (9): 1241–50. <https://doi.org/10.1128/EC.05029-11>.

Benito, Begoña, Blanca Garcíadeblás, a Alonso Rodríguez-Navarro. 2002. „Potassium- or Sodium-Efflux ATPase, a Key Enzyme in the Evolution of Fungi The GenBank Accession Numbers for the Sequences Reported in This Paper Are: Pleurotus Ostreatus ENA1, AJ420741; Phycomyces Blakesleeanus ENA1, AJ420742; Ph. Blakesleeanus PCA1, AJ420743; Blakeslea Trispora ENA1, AJ420744; B. Trispora BCA1, AJ420745; B. Trispora BCA2, AJ420746." *Microbiology* 148 (4): 933–41. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-4-933>.

*Bernal, Antonio, María A. Zafra, María J. Simón, a Javier Mahía. 2023. „Sodium Homeostasis, a Balance Necessary for Life". *Nutrients* 15 (2): 395. <https://doi.org/10.3390/nu15020395>.

- Bihler, Hermann, Clifford L Slayman, a Adam Bertl. 1998. „NSC1: A Novel High-current Inward Rectifier for Cations in the Plasma Membrane of *Saccharomyces Cerevisiae*". *FEBS Letters* 432 (1–2): 59–64. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00832-1](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00832-1).
- *Blanco, Gustavo, a Robert W. Mercer. 1998. „Isozymes of the Na-K-ATPase: Heterogeneity in Structure, Diversity in Function". *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 275 (5): F633–50. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1998.275.5.F633>.
- Brett, Christopher L., Deepali N. Tukaye, Sanchita Mukherjee, a Rajini Rao. 2005. „The Yeast Endosomal Na⁺ (K⁺)/H⁺ Exchanger Nhx1 Regulates Cellular pH to Control Vesicle Trafficking". *Molecular Biology of the Cell* 16 (3): 1396–1405. <https://doi.org/10.1091/mbc.e04-11-0999>.
- Brewster, Jay L., Tamsen De Valoir, Noelle D. Dwyer, Edward Winter, a Michael C. Gustin. 1993. „An Osmosensing Signal Transduction Pathway in Yeast". *Science* 259 (5102): 1760–63. <https://doi.org/10.1126/science.7681220>.
- Broadley, M. R., a P. J. White. 2001. „VIC Channels: Their Contribution to Mineral Element Uptake and Toxicity". In *Plant Nutrition*, editoval W. J. Horst, M. K. Schenk, A. Bürkert, N. Claassen, H. Flessa, W. B. Frommer, H. Goldbach, et al., 196–97. Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-47624-X_94.
- Bröer, Stefan, a Gregory Gauthier-Coles. 2022. „Amino Acid Homeostasis in Mammalian Cells with a Focus on Amino Acid Transport". *The Journal of Nutrition* 152 (1): 16–28. <https://doi.org/10.1093/jn/nxab342>.
- Burtner, Christopher R., Christopher J. Murakami, Brian K. Kennedy, a Matt Kaeberlein. 2009. „A Molecular Mechanism of Chronological Aging in Yeast". *Cell Cycle* 8 (8): 1256–70. <https://doi.org/10.4161/cc.8.8.8287>.
- Cagnac, Olivier, Marina Leterrier, Mark Yeager, a Eduardo Blumwald. 2007. „Identification and Characterization of Vnx1p, a Novel Type of Vacuolar Monovalent Cation/H⁺ Antiporter of *Saccharomyces Cerevisiae*". *Journal of Biological Chemistry* 282 (33): 24284–93. <https://doi.org/10.1074/jbc.M703116200>.
- Carden, David E., David J. Walker, Timothy J. Flowers, a Anthony J. Miller. 2003. „Single-Cell Measurements of the Contributions of Cytosolic Na⁺ and K⁺ to Salt Tolerance". *Plant Physiology* 131 (2): 676–83. <https://doi.org/10.1104/pp.011445>.
- *Castrop, Hayo, a Ina Maria Schiebl. 2014. „Physiology and Pathophysiology of the Renal Na-K-2Cl Cotransporter (NKCC2)". *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 307 (9): F991–1002. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00432.2014>.
- Cruz, Dinna N., David B. Simon, Carol Nelson-Williams, Anita Farhi, Karin Finberg, Laura Burleson, John R. Gill, a Richard P. Lifton. 2001. „Mutations in the Na-Cl Cotransporter Reduce Blood Pressure in Humans". *Hypertension* 37 (6): 1458–64. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.37.6.1458>.
- Da Silveira Dos Santos, Aline Xavier, Isabelle Riezman, Maria-Auxiliadora Aguilera-Romero, Fabrice David, Manuele Piccolis, Robbie Loewith, Olivier Schaad, a Howard Riezman. 2014. „Systematic Lipidomic Analysis of Yeast Protein Kinase and Phosphatase Mutants Reveals Novel Insights into Regulation of Lipid Homeostasis". Editoval Sandra Lemmon. *Molecular Biology of the Cell* 25 (20): 3234–46. <https://doi.org/10.1091/mbc.e14-03-0851>.
- Dahl, L K, a M Heine. 1975. „Primary Role of Renal Homografts in Setting Chronic Blood Pressure Levels in Rats." *Circulation Research* 36 (6): 692–96. <https://doi.org/10.1161/01.RES.36.6.692>.
- De Craene, Johan-Owen, Oriane Soetens, a Bruno André. 2001. „The Npr1 Kinase Controls Biosynthetic and Endocytic Sorting of the Yeast Gap1 Permease". *Journal of Biological Chemistry* 276 (47): 43939–48. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102944200>.

- Demidchik, Vadim, a Mark Tester. 2002. „Sodium Fluxes through Nonselective Cation Channels in the Plasma Membrane of Protoplasts from Arabidopsis Roots". *Plant Physiology* 128 (2): 379–87. <https://doi.org/10.1104/pp.010524>.
- Dimmer, Kai Stefan, Stefan Fritz, Florian Fuchs, Marlies Messerschmitt, Nadja Weinbach, Walter Neupert, a Benedikt Westermann. 2002. „Genetic Basis of Mitochondrial Function and Morphology in *Saccharomyces Cerevisiae*". Editoval Randy W. Schekman. *Molecular Biology of the Cell* 13 (3): 847–53. <https://doi.org/10.1091/mbc.01-12-0588>.
- *Donowitz, Mark, C. Ming Tse, a Daniel Fuster. 2013. „SLC9/NHE Gene Family, a Plasma Membrane and Organellar Family of Na⁺/H⁺ Exchangers". *Molecular Aspects of Medicine* 34 (2–3): 236–51. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.05.001>.
- Dušková, Michala. 2015. „Biochemická a molekulární podstata specifických vlastností nekonvenčních osmotolerantních kvasinek". Dizertační práce, Praha: Univerzita Karlova.
- Dušková, Michala, Denis Cmunt, Klára Papoušková, Jakub Masaryk, a Hana Sychrová. 2021. „Minority Potassium-Uptake System Trk2 Has a Crucial Role in Yeast Survival of Glucose-Induced Cell Death". *Microbiology* 167 (6). <https://doi.org/10.1099/mic.0.001065>.
- Eskandari, Sepehr, Donald D.F. Loo, Ge Dai, Orly Levy, Ernest M. Wright, a Nancy Carrasco. 1997. „Thyroid Na⁺/I⁻ Symporter". *Journal of Biological Chemistry* 272 (43): 27230–38. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.43.27230>.
- Faroqui, Somia, Sulaiman Sheriff, a Hassane Amlal. 2006. „Metabolic Acidosis Has Dual Effects on Sodium Handling by Rat Kidney". *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 291 (2): F322–31. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00338.2005>.
- Ficarro, Scott B., Mark L. McClelland, P. Todd Stukenberg, Daniel J. Burke, Mark M. Ross, Jeffrey Shabanowitz, Donald F. Hunt, a Forest M. White. 2002. „Phosphoproteome Analysis by Mass Spectrometry and Its Application to *Saccharomyces Cerevisiae*". *Nature Biotechnology* 20 (3): 301–5. <https://doi.org/10.1038/nbt0302-301>.
- *Fraschini, Roberta, Erica Raspelli, a Corinne Cassani. 2012. „Protein Phosphorylation Is an Important Tool to Change the Fate of Key Players in the Control of Cell Cycle Progression in *Saccharomyces Cerevisiae*". In *Protein Phosphorylation in Human Health*, editoval Cai Huang. InTech. <https://doi.org/10.5772/47809>.
- Frazier, Ann E., Rebecca D. Taylor, David U. Mick, Bettina Warscheid, Nadine Stoepel, Helmut E. Meyer, Michael T. Ryan, Bernard Guiard, a Peter Rehling. 2006. „Mdm38 Interacts with Ribosomes and Is a Component of the Mitochondrial Protein Export Machinery". *The Journal of Cell Biology* 172 (4): 553–64. <https://doi.org/10.1083/jcb.200505060>.
- *Fuster, Daniel G., a R. Todd Alexander. 2014. „Traditional and Emerging Roles for the SLC9 Na⁺/H⁺ Exchangers". *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 466 (1): 61–76. <https://doi.org/10.1007/s00424-013-1408-8>.
- Garciadeblas, Blanca, Francisco Rubio, Francisco J. Quintero, María A. Bañuelos, Rosario Haro, a Alonso Rodríguez-Navarro. 1993. „Differential Expression of Two Genes Encoding Isoforms of the ATPase Involved in Sodium Efflux in *Saccharomyces Cerevisiae*". *Molecular and General Genetics MGG* 236–236 (2–3): 363–68. <https://doi.org/10.1007/BF00277134>.
- Gillen, Christopher M., Susan Brill, John A. Payne, a Bliss Forbush. 1996. „Molecular Cloning and Functional Expression of the K-Cl Cotransporter from Rabbit, Rat, and Human". *Journal of Biological Chemistry* 271 (27): 16237–44. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.27.16237>.
- Giorgini, Flaviano, Paolo Guidetti, QuangVu Nguyen, Simone C Bennett, a Paul J Muchowski. 2005. „A Genomic Screen in Yeast Implicates Kynurenine 3-Monooxygenase as a Therapeutic Target for

- Huntington Disease". *Nature Genetics* 37 (5): 526–31. <https://doi.org/10.1038/ng1542>.
- Goffeau, A., B. G. Barrell, H. Bussey, R. W. Davis, B. Dujon, H. Feldmann, F. Galibert, et al. 1996. „Life with 6000 Genes". *Science* 274 (5287): 546–67. <https://doi.org/10.1126/science.274.5287.546>.
- Goossens, Alain, Natalia de la Fuente, Javier Forment, Ramon Serrano, a Francisco Portillo. 2000. „Regulation of Yeast H⁺-ATPase by Protein Kinases Belonging to a Family Dedicated to Activation of Plasma Membrane Transporters". <https://doi.org/10.1128/mcb.20.20.7654-7661.2000>.
- Guerreiro, Joana F., Nuno P. Mira, Aline X. S. Santos, Howard Riezman, a Isabel Sá-Correia. 2017. „Membrane Phosphoproteomics of Yeast Early Response to Acetic Acid: Role of Hrk1 Kinase and Lipid Biosynthetic Pathways, in Particular Sphingolipids". *Frontiers in Microbiology* 8 (červenec):1302. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01302>.
- Halfter, Ursula, Manabu Ishitani, a Jian-Kang Zhu. 2000. „The *Arabidopsis* SOS2 Protein Kinase Physically Interacts with and Is Activated by the Calcium-Binding Protein SOS3". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (7): 3735–40. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.7.3735>.
- Herrera, Rito, María C. Álvarez, Samuel Gelis, Marie Kodedová, Hana Sychrová, Maik Kschischo, a José Ramos. 2014. „Role of *Saccharomyces Cerevisiae* Trk1 in Stabilization of Intracellular Potassium Content upon Changes in External Potassium Levels". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1838 (1): 127–33. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.08.022>.
- Herrera, Rito, María C. Álvarez, Samuel Gelis, a José Ramos. 2013. „Subcellular Potassium and Sodium Distribution in *Saccharomyces Cerevisiae* Wild-Type and Vacuolar Mutants". *Biochemical Journal* 454 (3): 525–32. <https://doi.org/10.1042/BJ20130143>.
- *Cheng, Chih-Jen, Elizabeth Kuo, a Chou-Long Huang. 2013. „Extracellular Potassium Homeostasis: Insights from Hypokalemic Periodic Paralysis". *Seminars in Nephrology* 33 (3): 237–47. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2013.04.004>.
- Chew, Thomas A., Benjamin J. Orlando, Jinru Zhang, Naomi R. Latorraca, Amy Wang, Scott A. Hollingsworth, Dong-Hua Chen, Ron O. Dror, Maofu Liao, a Liang Feng. 2019. „Structure and Mechanism of the Cation–Chloride Cotransporter NKCC1". *Nature* 572 (7770): 488–92. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1438-2>.
- Jacinto, Estela, Bing Guo, Kim T. Arndt, Tobias Schmelzle, a Michael N. Hall. 2001. „TIP41 Interacts with TAP42 and Negatively Regulates the TOR Signaling Pathway". *Molecular Cell* 8 (5): 1017–26. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(01\)00386-0](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(01)00386-0).
- Janderová, Blanka, a Bendová, Olga. 1999. *Úvod do biologie kvasinek*. 1. vydání. Roč. 1999. Praha: Nakladatelství Karolinum Praha 1.
- Kim, Sun-Ki, Jung-Hyun Jo, Yong-Su Jin, a Jin-Ho Seo. 2017. „Enhanced Ethanol Fermentation by Engineered *Saccharomyces Cerevisiae* Strains with High Spermidine Contents". *Bioprocess and Biosystems Engineering* 40 (5): 683–91. <https://doi.org/10.1007/s00449-016-1733-3>.
- Ko, Christopher H., a Richard F. Gaber. 1991. „*TRK1* and *TRK2* Encode Structurally Related K⁺ Transporters in *Saccharomyces Cerevisiae*". *Molecular and Cellular Biology* 11 (8): 4266–73. <https://doi.org/10.1128/mcb.11.8.4266-4273.1991>.
- Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. 2010. *The Yeasts*. I. 5. ed. Amsterdam Heidelberg: Elsevier.
- Li, Jiaming, Joao A. Paulo, David P. Nusinow, Edward L. Huttlin, a Steven P. Gygi. 2019. „Investigation of Proteomic and Phosphoproteomic Responses to Signaling Network Perturbations Reveals Functional Pathway Organizations in Yeast". *Cell Reports* 29 (7): 2092-2104.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.10.034>.

- Li, Jianfang, Like Shen, Xiuli Han, Gefeng He, Wenxia Fan, Yu Li, Shiping Yang, et al. 2023. „Phosphatidic Acid–Regulated SOS2 Controls Sodium and Potassium Homeostasis in *Arabidopsis* under Salt Stress". *The EMBO Journal* 42 (8): e112401. <https://doi.org/10.15252/embj.2022112401>.
- Lin, Shaofeng, Chenwei Wang, Jiaqi Zhou, Ying Shi, Chen Ruan, Yiran Tu, Lan Yao, Di Peng, a Yu Xue. 2021. „EPD: A Well-Annotated Data Resource of Protein Phosphorylation Sites in Eukaryotes". *Briefings in Bioinformatics* 22 (1): 298–307. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz169>.
- Liu, Li, Jiajing Wang, Danny Rosenberg, Hao Zhao, György Lengyel, a Dani Nadel. 2018. „Fermented Beverage and Food Storage in 13,000 y-Old Stone Mortars at Raqefet Cave, Israel: Investigating Natufian Ritual Feasting". *Journal of Archaeological Science: Reports* 21 (říjen):783–93. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2018.08.008>.
- Lyons, Scott P., Nicole P. Jenkins, Isha Nasa, Meng S. Choy, Mark E. Adamo, Rebecca Page, Wolfgang Peti, Greg B. Moorhead, a Arminja N. Kettenbach. 2018. „A Quantitative Chemical Proteomic Strategy for Profiling Phosphoprotein Phosphatases from Yeast to Humans". *Molecular & Cellular Proteomics* 17 (12): 2448–61. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA118.000822>.
- *Maathuis, F. 1999. „K⁺ Nutrition and Na⁺ Toxicity: The Basis of Cellular K⁺/Na⁺Ratios". *Annals of Botany* 84 (2): 123–33. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.0912>.
- Maathuis, FransJ.M., a Dale Sanders. 1995. „Contrasting Roles in Ion Transport of Two K⁺-Channel Types in Root Cells of *Arabidopsis Thaliana*". *Planta* 197 (3). <https://doi.org/10.1007/BF00196667>.
- *Maicas, Sergi. 2020. „The Role of Yeasts in Fermentation Processes". *Microorganisms* 8 (8): 1142. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142>.
- Maresova, Lydie, Eva Urbankova, Dana Gaskova, a Hana Sychrova. 2006. „Measurements of Plasma Membrane Potential Changes in *Saccharomyces Cerevisiae* Cells Reveal the Importance of the Tok1 Channel in Membrane Potential Maintenance". *FEMS Yeast Research* 6 (7): 1039–46. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00140.x>.
- Märquez, José, a Ramón Serrano. 1996. „Multiple Transduction Pathways Regulate the Sodium-extrusion Gene *PMR2/ENAI* during Salt Stress in Yeast". *FEBS Letters* 382 (1–2): 89–92. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00157-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00157-3).
- Masaryk, Jakub, Deepika Kale, Pavel Pohl, Francisco J. Ruiz-Castilla, Olga Zimmermannová, Veronika Obšilová, José Ramos, a Hana Sychrová. 2023. „The Second Intracellular Loop of the Yeast Trk1 Potassium Transporter Is Involved in Regulation of Activity, and Interaction with 14–3-3 Proteins". *Computational and Structural Biotechnology Journal* 21:2705–16. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.04.019>.
- Masaryk, Jakub, a Hana Sychrová. 2022. „Yeast Trk1 Potassium Transporter Gradually Changes Its Affinity in Response to Both External and Internal Signals". *Journal of Fungi* 8 (5): 432. <https://doi.org/10.3390/jof8050432>.
- Mas-Bargues, Cristina, Aurora Román-Domínguez, Consuelo Borrás, a José Viña. 2023. „Geroscience: A Unifying View on Aging as a Risk Factor". In *Aging*, 587–600. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823761-8.00028-8>.
- Masrati, Gal, Manish Dwivedi, Abraham Rimón, Yael Gluck-Margolin, Amit Kessel, Haim Ashkenazy, Itay Mayrose, Etana Padan, a Nir Ben-Tal. 2018. „Broad Phylogenetic Analysis of Cation/Proton Antiporters Reveals Transport Determinants". *Nature Communications* 9 (1): 4205. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06770-5>.
- Mendoza, I., F. Rubio, A. Rodríguez-Navarro, a J.M. Pardo. 1994. „The Protein Phosphatase Calcineurin Is Essential for NaCl Tolerance of *Saccharomyces Cerevisiae*." *Journal of Biological Chemistry* 269 (12): 8792–96. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)37038-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37038-2).

- Mercado, Adriana, Norma Vázquez, Luyan Song, Rosa Cortés, Alissa H. Enck, Rick Welch, Eric Delpire, Gerardo Gamba, a David B. Mount. 2005. „NH₂-Terminal Heterogeneity in the KCC3 K⁺-Cl⁻ Cotransporter". *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 289 (6): F1246–61. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00464.2004>.
- Mira, Nuno P, Margarida Palma, Joana F Guerreiro, a Isabel Sá-Correia. 2010. „Genome-Wide Identification of *Saccharomyces Cerevisiae* Genes Required for Tolerance to Acetic Acid". *Microbial Cell Factories* 9 (1): 79. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-9-79>.
- Miret, J. J., A. J. Solari, Patricia A. Barderi, a Sara H. Goldemberg. 1992. „Polyamines and Cell Wall Organization in *Saccharomyces Cerevisiae*". *Yeast* 8 (12): 1033–41. <https://doi.org/10.1002/yea.320081206>.
- Mount, David B., Adriana Mercado, Luyan Song, Jason Xu, Alfred L. George, Eric Delpire, a Gerardo Gamba. 1999. „Cloning and Characterization of KCC3 and KCC4, New Members of the Cation-Chloride Cotransporter Gene Family". *Journal of Biological Chemistry* 274 (23): 16355–62. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.23.16355>.
- Mulet, Jose M., Martin P. Leube, Stephen J. Kron, Gabino Rios, Gerald R. Fink, a Ramon Serrano. 1999. „A Novel Mechanism of Ion Homeostasis and Salt Tolerance in Yeast: The Hal4 and Hal5 Protein Kinases Modulate the Trk1-Trk2 Potassium Transporter". *Molecular and Cellular Biology* 19 (5): 3328–37. <https://doi.org/10.1128/MCB.19.5.3328>.
- Muzaffar, Suhail, a Bharat B. Chattoo. 2017. „Apoptosis-Inducing Factor (Aif1) Mediates Anacardic Acid-Induced Apoptosis in *Saccharomyces Cerevisiae*". *Apoptosis* 22 (3): 463–74. <https://doi.org/10.1007/s10495-016-1330-6>.
- Nass, Richard, a Rajini Rao. 1999. „The Yeast Endosomal Na⁺/H⁺ Exchanger, Nhx1, Confers Osmotolerance Following Acute Hypertonic Shock". *Microbiology* 145 (11): 3221–28. <https://doi.org/10.1099/00221287-145-11-3221>.
- Nowikovsky, Karin, Elisabeth M. Froschauer, Gabor Zsurka, Jozef Samaj, Siegfried Reipert, Martin Kolisek, Gerlinde Wiesenberger, a Rudolf J. Schweyen. 2004. „The LETM1/YOL027 Gene Family Encodes a Factor of the Mitochondrial K⁺ Homeostasis with a Potential Role in the Wolf-Hirschhorn Syndrome". *Journal of Biological Chemistry* 279 (29): 30307–15. <https://doi.org/10.1074/jbc.M403607200>.
- Olz, R, K Larsson, L Adler, a L Gustafsson. 1993. „Energy Flux and Osmoregulation of *Saccharomyces Cerevisiae* Grown in Chemostats under NaCl Stress". *Journal of Bacteriology* 175 (8): 2205–13. <https://doi.org/10.1128/jb.175.8.2205-2213.1993>.
- *Palmer, Biff F., a Deborah J. Clegg. 2016. „Physiology and Pathophysiology of Potassium Homeostasis". *Advances in Physiology Education* 40 (4): 480–90. <https://doi.org/10.1152/advan.00121.2016>.
- Papouskova, Klara, Michaela Moravcova, Gal Masrati, Nir Ben-Tal, Hana Sychrova, a Olga Zimmermannova. 2021. „C5 Conserved Region of Hydrophilic C-terminal Part of *Saccharomyces Cerevisiae* Nha1 Antiporter Determines Its Requirement of Erv14 COPII Cargo Receptor for Plasma-membrane Targeting". *Molecular Microbiology* 115 (1): 41–57. <https://doi.org/10.1111/mmi.14595>.
- Petrezselyova, Silvia, Olga Kinclova-Zimmermannova, a Hana Sychrova. 2013. „Vhc1, a Novel Transporter Belonging to the Family of Electroneutral Cation–Cl⁻ Cotransporters, Participates in the Regulation of Cation Content and Morphology of *Saccharomyces Cerevisiae* Vacuoles". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1828 (2): 623–31. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.09.019>.
- Picazo, Cecilia, Brian McDonagh, José Peinado, José A. Bárcena, Emilia Matallana, a Agustín

Aranda. 2019. „Saccharomyces Cerevisiae Cytosolic Thioredoxins Control Glycolysis, Lipid Metabolism, and Protein Biosynthesis under Wine-Making Conditions". Editoval Edward G. Dudley. *Applied and Environmental Microbiology* 85 (7): e02953-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.02953-18>.

Prior, Concepcion, Serge Potier, Jean-Luc Souciet, a Hana Sychrova. 1996. „Characterization of the *NHA1* Gene Encoding a Na^+/H^+ -antiporter of the Yeast *Saccharomyces Cerevisiae*". *FEBS Letters* 387 (1): 89–93. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00470-X](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00470-X).

Proft, Markus, a Ramón Serrano. 1999. „Repressors and Upstream Repressing Sequences of the Stress-Regulated *ENA1* Gene in *Saccharomyces Cerevisiae* : bZIP Protein Sko1p Confers HOG-Dependent Osmotic Regulation". *Molecular and Cellular Biology* 19 (1): 537–46. <https://doi.org/10.1128/MCB.19.1.537>.

Proft, Markus, a Kevin Struhl. 2004. „MAP Kinase-Mediated Stress Relief That Precedes and Regulates the Timing of Transcriptional Induction". *Cell* 118 (3): 351–61. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.07.016>.

Ptacek, Jason, Geeta Devgan, Gregory Michaud, Heng Zhu, Xiaowei Zhu, Joseph Fasolo, Hong Guo, et al. 2005. „Global Analysis of Protein Phosphorylation in Yeast". *Nature* 438 (7068): 679–84. <https://doi.org/10.1038/nature04187>.

*Ramos, José, Joaquín Ariño, a Hana Sychrová. 2011. „Alkali-Metal-Cation Influx and Efflux Systems in Nonconventional Yeast Species: Potassium and Sodium Transporters in Yeasts". *FEMS Microbiology Letters* 317 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02214.x>.

*Sá-Correia, Isabel, a Cláudia P Godinho. 2022. „Exploring the Biological Function of Efflux Pumps for the Development of Superior Industrial Yeasts". *Current Opinion in Biotechnology* 74 (duben):32–41. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.10.014>.

Saleem, Ramsey A., Barbara Knoblach, Fred D. Mast, Jennifer J. Smith, John Boyle, C. Melissa Dobson, Rose Long-O'Donnell, Richard A. Rachubinski, a John D. Aitchison. 2008. „Genome-Wide Analysis of Signaling Networks Regulating Fatty Acid-Induced Gene Expression and Organelle Biogenesis". *The Journal of Cell Biology* 181 (2): 281–92. <https://doi.org/10.1083/jcb.200710009>.

Schachtman, Daniel P., Stephen D. Tyerman, a Bernard R. Terry. 1991. „The K^+/Na^+ Selectivity of a Cation Channel in the Plasma Membrane of Root Cells Does Not Differ in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Wheat Species". *Plant Physiology* 97 (2): 598–605. <https://doi.org/10.1104/pp.97.2.598>.

Schmidt, Anja, Thomas Beck, Antonius Koller, Jeannette Kunz, a Michael N. Hall. 1998. „The TOR nutrient signalling pathway phosphorylates NPR1 and inhibits turnover of the tryptophan permease". *The EMBO Journal* 17 (23): 6924–31. <https://doi.org/10.1093/emboj/17.23.6924>.

Silayeva, Liliya, Tarek Z. Deeb, Rochelle M. Hines, Matt R. Kelley, Michaelanne B. Munoz, Henry H. C. Lee, Nicholas J. Brandon, et al. 2015. „KCC2 Activity Is Critical in Limiting the Onset and Severity of Status Epilepticus". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (11): 3523–28. <https://doi.org/10.1073/pnas.1415126112>.

*Skou, Jens Christian, a Mikael Esmann. 1992. „The Na, K-ATPase". *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 24 (3): 249–61. <https://doi.org/10.1007/BF00768846>.

Spatenkova, Věra, Ondřej Bradáč, Antonín Kazda, a Petr Suchomel. 2011. „Central diabetes insipidus is not a common and prognostically worse type of hypernatremia in neurointensive care" 32. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22286785/>.

*Srivastava, Ashish Kumar, Alka Shankar, Anil Kumar Nalini Chandran, Manisha Sharma, Ki-Hong Jung, Penna Suprasanna, a Girdhar K Pandey. 2020. „Emerging Concepts of Potassium Homeostasis in Plants". Editoval Christine Foyer. *Journal of Experimental Botany* 71 (2): 608–19. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz458>.

Sychrová Hana, Jorge Ramírez, a Antonio Peña. 1999. „Involvement of Nha1 Antiporter in Regulation of Intracellular pH in *Saccharomyces Cerevisiae*". *FEMS Microbiology Letters* 171 (2): 167–72. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13428.x>.

Tumolo, Jessica M., Nathaniel L. Hepowit, Samika S. Joshi, a Jason A. MacGurn. 2020. „A Snf1-Related Nutrient-Responsive Kinase Antagonizes Endocytosis in Yeast". Editoval Gregory P. Copenhaver. *PLoS Genetics* 16 (3): e1008677. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008677>.

Uemura, Takeshi, Keiko Kashiwagi, a Kazuei Igarashi. 2007. „Polyamine Uptake by DUR3 and SAM3 in *Saccharomyces Cerevisiae*". *Journal of Biological Chemistry* 282 (10): 7733–41. <https://doi.org/10.1074/jbc.M611105200>.

Vandenbol, Micheline, Jean-Claude Jauniaux, a Marcelle Grenson. 1990. „The *Saccharomyces Cerevisiae* NPR1 Gene Required for the Activity of Ammonia-Sensitive Amino Acid Permeases Encodes a Protein Kinase Homologue". *Molecular and General Genetics MGG* 222 (2–3): 393–99. <https://doi.org/10.1007/BF00633845>.

Vargas, Rita C., Raúl García-Salcedo, Sandra Tenreiro, Miguel C. Teixeira, Alexandra R. Fernandes, José Ramos, a Isabel Sá-Correia. 2007. „*Saccharomyces Cerevisiae* Multidrug Resistance Transporter Qdr2 Is Implicated in Potassium Uptake, Providing a Physiological Advantage to Quinidine-Stressed Cells". *Eukaryotic Cell* 6 (2): 134–42. <https://doi.org/10.1128/EC.00290-06>.

Weaver, Amy K., Valerie C. Bomben, a Harald Sontheimer. 2006. „Expression and Function of Calcium-activated Potassium Channels in Human Glioma Cells". *Glia* 54 (3): 223–33. <https://doi.org/10.1002/glia.20364>.

Wieland, J., A. M. Nitsche, J. Strayle, H. Steiner, a H. K. Rudolph. 1995. „The PMR2 Gene Cluster Encodes Functionally Distinct Isoforms of a Putative Na⁺ Pump in the Yeast Plasma Membrane." *The EMBO Journal* 14 (16): 3870–82. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb00059.x>.

Yang, Tianyuan, Xin Lu, Yan Wang, Yunxia Xie, Jingzhen Ma, Xunmin Cheng, Enhua Xia, Xiaochun Wan, a Zhaoliang Zhang. 2020. „HAK/KUP/KT Family Potassium Transporter Genes Are Involved in Potassium Deficiency and Stress Responses in Tea Plants (*Camellia Sinensis* L.): Expression and Functional Analysis". *BMC Genomics* 21 (1): 556. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06948-6>.

Ye, Pei-Liang, Xue-Qing Wang, Bing Yuan, Chen-Guang Liu, a Xin-Qing Zhao. 2022. „Manipulating Cell Flocculation-Associated Protein Kinases in *Saccharomyces Cerevisiae* Enables Improved Stress Tolerance and Efficient Cellulosic Ethanol Production". *Bioresource Technology* 348 (březen):126758. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126758>.

*Yenush, Lynne. 2016. „Potassium and Sodium Transport in Yeast". In *Yeast Membrane Transport*, editoval José Ramos, Hana Sychrová, a Maik Kschischo, 892:187–228. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25304-6_8.

Yibmantasiri, Ploi, Peter W. Bircham, David R. Maass, David S. Bellows, a Paul H. Atkinson. 2014. „Networks of Genes Modulating the Pleiotropic Drug Response in *Saccharomyces Cerevisiae*". *Mol. BioSyst.* 10 (1): 128–37. <https://doi.org/10.1039/C3MB70351G>.

Zander, Gesa, Wilfried Kramer, Anika Seel, a Heike Krebber. 2017. „*SACCHAROMYCES CEREVISIAE* Gle2/Rae1 Is Involved in Septin Organization, Essential for Cell Cycle Progression". *Yeast* 34 (11): 459–70. <https://doi.org/10.1002/yea.3249>.

Zayats, Vasilina, Thomas Stockner, Saurabh Kumar Pandey, Katharina Wörz, Rüdiger Ettrich, a Jost Ludwig. 2015. „A Refined Atomic Scale Model of the *Saccharomyces Cerevisiae* K⁺-Translocation Protein Trk1p Combined with Experimental Evidence Confirms the Role of Selectivity Filter Glycines and Other Key Residues". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1848 (5): 1183–95.

<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.02.007>.

Zimmermannova, Olga, Kristina Felcmanova, Lenka Sacka, Anne-Sophie Colinet, Pierre Morsomme, a Hana Sychrova. 2021. „K⁺-Specific Importers Trk1 and Trk2 Play Different Roles in Ca²⁺ Homeostasis and Signalling in *Saccharomyces Cerevisiae* Cells". *FEMS Yeast Research* 21 (3): foab015. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foab015>.

Zotova, Ludmila, Markus Aleschko, Gerhard Sponder, Roland Baumgartner, Siegfried Reipert, Monika Prinz, Rudolf J. Schweyen, a Karin Nowikovsky. 2010. „Novel Components of an Active Mitochondrial K⁺/H⁺ Exchange". *Journal of Biological Chemistry* 285 (19): 14399–414. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.059956>.