

Obranné peptidasové inhibitory rostlin: Analýza procesu indukce a mechanismu aktivace

Abstract

Trypsinové proteázové inhibitory (TPIs) obsažené v divokém tabáku *Nicotiana attenuata* jsou hlavními obrannými látkami, jejichž obsah se výrazně zvyšuje po napadení rostliny hmyzem nebo působením fytohormonu methyljasmonátu (MeJA). Pro pochopení procesu indukce TPIs byla charakterizována proteolytická fragmentace a následné uvolnění TPIs z multidoménového prekurzoru v rostlinách s neindukovanou a indukovanou hladinou TPIs. Z listového pletiva byla izolována sada izoinhibitorů trypsinu (molekulová hmotnost ~6 kD) a následně charakterizována jejich posttranslační modifikace. Přítomnost dvouřetězcové inhibiční domény ukazuje cirkulární uspořádání jednotlivých inhibičních domén (TPI) v prekurzoru. U části MeJA-indukovaných izoinhibitorů byl nalezen odlišný způsob fragmentace na N-konci molekuly. Tato strukturální heterogenita je způsobena rozdílným štěpením spojovacího peptidu, kterým jsou odděleny jednotlivé inhibiční domény v prekurzoru. Pomocí specifických peptidových substrátů (fluorescenčně značené FRET) odvozených z aminokyselinové sekvence spojovacího peptidu byly charakterizovány proteázy způsobující proteolytické štěpení prekurzoru na jednotlivé aktivní izoinhibitory a odštěpení transportní sekvence pro buněčné vakuoly (VTS doména).