

4. Závěr

1. Z listů tabáku *Nicotiana tabacum* L. byla izolována nefotosyntetická cytosolová isoforma NADP-dependentní malátdehydrogenasy (oxaloacetát-dekarboxylační) (EC 1.1.1.40; NADP-ME) o výsledné specifické aktivitě $0,95 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$, relativní molekulové hmotnosti jedné podjednotky tetrameru $\sim 67\,000$, pI 5,5 a pH optimu 7,1 - 7,4. Byly stanoveny kinetické parametry této isoformy pro substrát L-malát a NADP^+ v přítomnosti kofaktorů Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , stejně jako byly sledovány závislosti reakčních rychlostí na koncentraci jednotlivých iontů. Závislost reakční rychlosti na koncentraci Mn^{2+} iontů byla sigmoidální se silnou pozitivní kooperativitou a vysokou hodnotou Hillova koeficientu 7,5.

2. Mechanismus dvousubstrátové reakce katalyzované NADP-ME z listů tabáku byl určen jako uspořádaný sekvenční.
3. Regulace NADP-ME isoformy purifikované z listů tabáku se uskutečňuje především energeticky bohatými látkami (GTP, ATP a ADP), mírně pak některými metabolity glykolýzy.
4. Vlivem biotického stresu způsobeného *Y virem bramboru* (PVY) došlo v průběhu infekce ke zvýšení aktivity NADP-ME v listech, stoncích i kořenech *N. tabacum* L., a to jak kmenem PVY^O, tak kmenem PVY^{NTN}. Mírnější kmen PVY^O způsobil nižší zvýšení aktivity než nekrotický izolát kmene PVY^{NTN}. Významně zvýšené aktivity NADP-ME vlivem PVY^{NTN} odpovídala i zvýšená transkripce cytosolové isoformy NADP-ME a exprese tohoto proteinu.
5. Transgenní rostliny *Nicotiana tabacum* L. s vneseným genem pro potyvirový protein P3 z *A viru bramboru* a transgenní rostliny *Nicotiana benthamiana* s vneseným genem pro multifunkční potyvirový protein HC-pro z *A viru bramboru* se v odpovědi na infekci PVY^{NTN} nelišily aktivitou NADP-ME od svých netransgenních kontrol.
6. Rostliny *Nicotiana benthamiana* neodpovídají na virovou infekci PVY^{NTN} zvýšením aktivity NADP-ME v listech, odpovídají však zvýšením aktivity NADP-ME v kořenech, které je obdobné jako v kořenech infikovaných rostlin *Nicotiana tabacum* L. V různých částech kontrolních i infikovaných rostlin *Nicotiana benthamiana* byly nalezeny isoformy NADP-ME.
7. Abiotický stres v podobě nedostatku CO₂ a sucha zvyšoval aktivitu NADP-ME v listech rostlin *Nicotiana tabacum* L.