

*Maciej Astriab, Tomasz Twardowski*  
*Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu*

## **Funkcja dekarboksylazy lizynowej w regulacji biosyntezy alkaloidów chinolizydynowych**

**Słowa kluczowe:** dekarboksylaza lizynowa, alkaloidy chinolizydynowe, stres biotyczny

### **Wstęp**

#### **Pojęcie metabolitów pierwotnych i wtórnych**

Pierwszym, który ponad 100 lat temu wprowadził pojęcie metabolitów wtórnych, był Kossel. Twierdził on, że jakkolwiek metabolity pierwotne obecne są we wszystkich roślinach, to wtórnie pojawiają się jedynie sporadycznie i nie są substancjami koniecznymi do życia rośliny [18]. Związków o znanej strukturze zaliczanych do metabolitów wtórnych jest obecnie ponad 27 tysięcy. Niektóre z nich, zwane również allelochemikaliami, posiadają cenne właściwości [18]. Termin „oddziaływania allelochemiczne” oznacza aktywność produktów naturalnych wpływającą na rozwój, wzrost, zdrowie, rozmnażanie organizmów innych gatunków niż te, z których wydzielono te związki. W charakterystyce tych związków należy podkreślić ich zastosowania lecznicze, aczkolwiek bywają one także szkodliwe dla człowieka (np. mają właściwości antyżywniowe). Alkaloidy można uznać zatem za metabolity wtórne o właściwościach allelochemicznych [18, 21, 25].

Termin **alkaloidy** wywodzi się od arabskiego słowa *al-qualli*. Od czasu identyfikacji w 1806 r. przez Sertürnera pierwszego alkaloidu — morfiny, wyizolowano ponad 3 tysiące tych związków i określono ich strukturę [25]. Jednakże ekstrakty roślinne zawierające alkaloidy stosowane były już w starożytności w formie eliksirów, lekarstw czy trucizn. Wspomnieć tu można zgon Sokratesa po zażyciu śmiertelnej dawki koniiny, pochodzącej z nasion i liści *Conium maculatum*. Innym przykładem może być stosowanie przez Kleopatę jako leku — ekstraktów zawierających atropinę z *Hyocyamus muticus* [12]. Alkaloidy izolowane z roślin, jak również ich syntetyczne analogi, są współcześnie stosowane jako leki, paraleki i odżywki.

## Rola metabolitów wtórnych w roślinie

Obecnie znanych jest ponad 13 000 gatunków roślin mających właściwości lecznicze, z czego około 25% wykorzystywanych jest bezpośrednio w medycynie, w różnorodnej formie, jako leki zawierające metabolity wtórne (np. ogólnie znane pochodne morfiny czy kodeiny) [26]. Alkaloidy są również dobrze znanymi i używanymi stymulantami, jak przykładowo kofeina zawarta w kawie i herbacie, czy też nikotyna w papierosach. Choć obecnie dużo wiadomo na temat farmakologicznych efektów działania tych związków, to stosunkowo mało jest informacji na temat regulacji ich biosyntezy. W celu komercyjnego wykorzystania organizmów-producentów alkaloidów ważna jest możliwość zarówno obniżenia, jak i podwyższenia stężenia tych związków w materiale biologicznym. Innym, niezwykle ważnym zagadnieniem jest funkcja, jaką pełnią alkaloidy w roślinie. W tym kontekście dobrym, modelowym obiektem badawczym jest łubin. Jedną z grup alkaloidów występujących w tej roślinie są alkaloidy chinolizydynowe, które poza właściwościami antyżywniowymi mają również cechy antybakteryjne i owadobójcze [27, 32].

Z danych literaturowych wynika, że synteza alkaloidów chinolizydynowych następuje w ciągu dnia w liściach, w błonach tylakoidowych chloroplastów (a zatem wymaga światła) [30]. Wiadomo również, że najwyższe stężenie tych związków ma miejsce w nasionach. Na tej podstawie sądzi się, że zachodzi skomplikowany proces transportu alkaloidów w roślinie — od miejsca biosyntezy do miejsca ich magazynowania [27]. Wiadomo natomiast, że w obrębie komórki transport tych substancji katalizowany jest przez specyficzne białka błonowe. Energia potrzebna do przeprowadzenia tego procesu pochodzi od ATP-azy i potencjału błonowego wytworzonego przez jony  $K^+$  [18].

## Mechanizmy obronne roślin w stresie biotycznym i abiotycznym

---

Rośliny narażone są na różnego rodzaju stresy (biotyczne i abiotyczne). Wytworzenie specyficznych mechanizmów obronnych jest naturalną odpowiedzią każdego żywego organizmu na stres, natomiast odmienność mechanizmów reakcji na stres jest funkcją różnorodności czynników go wywołujących. Do stresu biotycznego można zaliczyć atak wszelkiego rodzaju patogenów (np. grzyby, bakterie, wirusy, a także zwierząt, czy nawet mechaniczne uszkodzenie rośliny). Natomiast przykładem stresu abiotycznego może być niekorzystny poziom (niedobór lub nadmiar) jonów metali, np. żelaza [24], czy też niekorzystne warunki fizykochemiczne, np. temperatura, wilgotność.

Odpowiedzią na stres abiotyczny jest zazwyczaj synteza odpowiednich związków, najczęściej białek, których funkcją jest niwelowanie niekorzystnego wpływu środo-

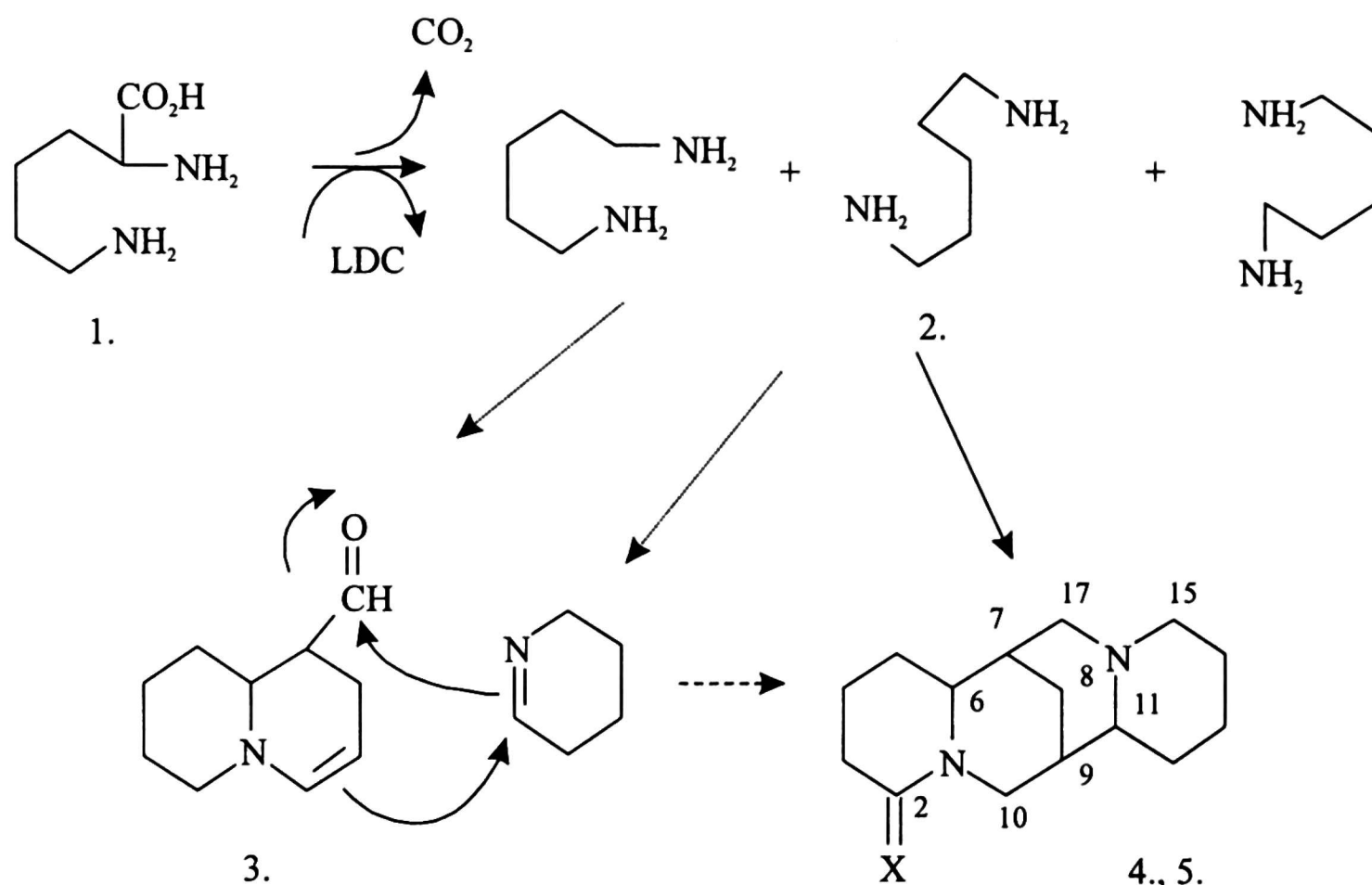
wiska. Przykładowo nadmiar żelaza w środowisku może być czynnikiem stymulującym biosyntezę ferrytyny w roślinie — kompleksu żelazo-proteinowego zdolnego do magazynowania nadmiaru żelaza [4 i prace tam cytowane, 16, 24].

### Stres biotyczny — funkcja regulatorowa dekarboksylazy lizynowej w mechanizmie biosyntezy alkaloidów chinolizydynowych

W wypadku stresu biotycznego rośliny wytworzyły wiele różnorodnych, zasadniczo odmiennych typów reakcji. Jednym z charakterystycznych przykładów może być morfologiczne przystosowanie roślin do niekorzystnych warunków biotycznych poprzez wytworzenie cierni czy kolców. Ten szczególny sposób zabezpieczenia chroni zwykle te organy lub tkanki, które pełnią istotne funkcje warunkujące przetrwanie bądź reprodukcję (kwiaty, owoce, nasiona) [27].

Rośliny, które nie mają cech morfologicznych broniących je przed potencjalnie niekorzystnymi warunkami stresu biotycznego wykorzystują diametralnie odmienny mechanizm obronny, a mianowicie wytwarzają toksyczne związki, które mogą być uznane za swoistą „broń chemiczną”. Biosynteza metabolitów wtórnych, takich jak alkaloidy chinolizydynowe, jest tego doskonałym przykładem. Z danych literaturowych wynika, że związki te są inhibitorami rozwoju wielu bakterii i grzybów [27, 32], a także wirusa X ziemniaka [32]. Są one również toksyczne dla kręgowców i dla owadów [27, 31]. Stężenie alkaloidów chinolizydynowych w roślinie jest dość zróżnicowane. W zależności od tkanki wynosi od bardzo niskich wartości ( $0,05 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) do relatywnie wysokich —  $5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Wzrasta ono znacznie w momencie infekcji czy też zranienia rośliny, szczególnie w tkankach epidermalnych [27, 32]. Rośliny zawierające alkaloidy chinolizydynowe zwykle nie magazynują w równym stopniu innych metabolitów wtórnych. Jednocześnie rośliny niezawierające alkaloidów chinolizydynowych akumulują w to miejsce toksyczne aminokwasy niebiałkowe, alkaloidy pirolizydynowe, cyjanogenne glikozydy i inhibitory proteaz pełniące również ważne funkcje obronne [27]. Podobnie jak w wypadku obronnych przystosowań morfologicznych organy pełniące szczególnie ważną funkcję w roślinie (np. kwiaty, owoce, nasiona, kiełki) magazynują alkaloidy chinolizydynowe w znacznych ilościach. Przechowywanie tych substancji w tkankach epidermalnych ma swoje uzasadnienie, gdyż zwykle właśnie te tkanki narażone są w pierwszym rzędzie na atak patogena. Poziom alkaloidów chinolizydynowych wzrasta wówczas w trakcie „inwazji” 2–4-krotnie przez pierwsze 3 godziny po zranieniu, czy też w wyniku ataku czynnika patogenego. Powtórne lub przedłużone działanie czynnika stresowego zwielokrotnia efekt biosyntezy alkaloidów [7, 27, 32].

Z danych literaturowych wynika, że alkaloidy chinolizydynowe stanowią swoisty chemiczny system obronny łubinu [18, 12, 27, 32]. Poparciem tej tezy mogą być uzyskane wyniki z doświadczalnej hodowli łubinów wolnych od alkaloidów równoległe z formami dzikimi tych roślin bogatych w alkaloidy. W przeprowadzonych badaniach



**Rysunek 1.** Przekształcenie lizyny do alkaloidów chinolizydydowych: sparteiny i lupaniny, (wskazana jest funkcja LDC); 1 — lizyna, 2 — kadaweryna (różne konformacje), 3 — związek przejściowy, 4 — sparteina (X = H<sub>2</sub>), 5 — lupanina (X = O); LDC — dekarboksylaza lizynowa

zaobserwowano selektywną eliminację przez pasożyty roślin pozbawionych systemu obronnego w postaci alkaloidów (odmiany niskoalkaloidowe).

Stymulacja biosyntezy alkaloidów chinolizydydowych, jako wynik stresu biotycznego, jest jednym z wielu przykładów wytworzenia systemów obronnych w roślinach. Stanowi jednak spektakularny, a zarazem istotny przykład roli i znaczenia metabolitów wtórnych.

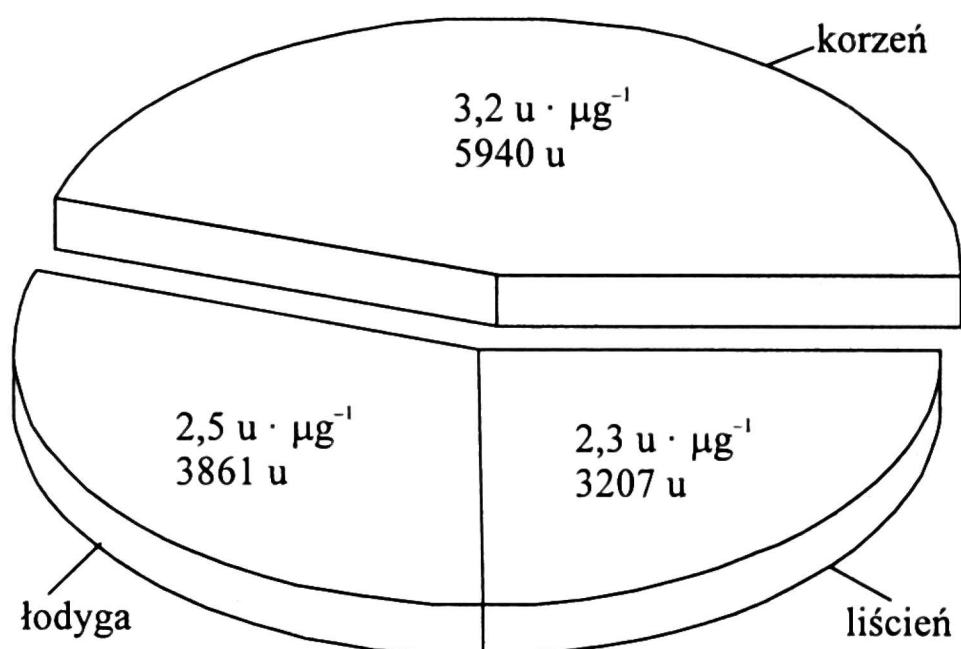
Bardzo niewiele, jak do tej pory, wiadomo — podobnie jak w wypadku innych alkaloidów — na temat mechanizmów regulujących biosyntezę tych związków. Droga przemian prowadząca do wytworzenia alkaloidów chinolizydydowych (rys.1) prowadzi od lizyny poprzez kadawerynę do sparteiny i lupaniny [29], a w swym pierwszym etapie przekształceń katalizowana jest przez dekarboksylazę lizynową (LDC — lysine decarboxylase) [20]. Uważa się, że enzym ten może pełnić szczególnie ważną rolę w regulacji poziomu alkaloidów. Na podstawie przeprowadzonych badań własnych i danych literaturowych sugerujemy, że niska zawartość alkaloidów w formach „słodkich” łubinu może być spowodowana znacznym obniżeniem aktywności dekarboksylazy lizynowej [30, Astriab — dane niepublikowane].

Rozważając kwestię regulacji biosyntezy alkaloidów chinolizydydowych, nie sposób pominąć korelacji miejsca ich syntezy i magazynowania oraz rozmieszczenia w różnych częściach rośliny. Intensywne badania tego problemu prowadzone były już w latach osiemdziesiątych w laboratorium Winka [28]. Badał on aktywność enzyma-

tyczną dekarboksylazy lizynowej i syntazy 17-oksosparteinoj, izolowanych z różnych organów *L. poliphyllus*, w korelacji z zawartością alkaloidów. Rezultatem prowadzonych prac było stwierdzenie obecności alkaloidów we wszystkich badanych częściach rośliny. Najwyższe stężenie alkaloidów w stosunku do wszystkich alkaloidów w roślinie obserwowano w korzeniach (38–45%). Największe nagromadzenie tych związków wykazano w zielonych częściach roślin, a w szczególności w liściach ( $600 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  świeżej masy) i górnych częściach łodyg ( $1300 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  świeżej masy). W porównaniu z rośliną zieloną największa zawartość alkaloidów występuje w nasionach ( $10 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  suchej masy). Ciekawe jest, jak się wydaje, wykazanie podobnych zależności w stosunku do dekarboksylazy lizynowej. Jakkolwiek obecność LDC wykryto we wszystkich częściach rośliny, zaskakujące było stwierdzenie najwyższej aktywności specyficznej tego enzymu w korzeniach. Rezultaty te są interesujące również w powiązaniu z innymi wynikami, a mianowicie wskazanie miejsca syntezy LDC w błonach tylakoidowych chloroplastów, oraz wykazanie korelacji między zawartością chlorofilu w liściach a aktywnością dekarboksylazy lizynowej [28]. Z danych literaturowych oraz własnych badań wynika, że etap dekarboksylacji lizyny do kadaweryny ma decydujące znaczenie, a dekarboksylaza lizynowa może pełnić tu funkcję regulatorową [1, 20, 30]. Zależność między stopniem zazielenienia liści i aktywnością LDC, a co za tym idzie — biosyntezą alkaloidów chinolizydynowych, obserwowano wykonując inną serię eksperymentów. Rośliny przetrzymywane w ciemności przez 10 dni przeniesiono do warunków naturalnych, tj. w okresie dnia wystawiono na działanie światła. Po 5 dniach zaobserwowano zazielenienie liści tych roślin. Podczas okresu ciemności został obniżony poziom alkaloidów, który następnie wzrósł wraz z biosyntezą chlorofilu w liściach [20]. Jako dodatkową obserwację odnotowano zależność między zawartością chlorofilu w liściach a aktywnością dekarboksylazy lizynowej, co pozostaje w zgodności z faktem umiejscowienia biosyntezy alkaloidów chinolizydynowych i LDC w chloroplastach.

W kolejnych eksperymentach przeprowadzono hodowle różnych odmian łąbinu: „gorzkich” i „słodkich” (z odpowiednio wysoką, czyli ok. 2–3%, i niską zawartością alkaloidów, poniżej 0,1%); otrzymano dane pozwalające określić pozytywną zależność pomiędzy poziomem alkaloidów a aktywnością specyficznych enzymów odpowiedzialnych za ich syntezę. Pozwoliło to na stwierdzenie, że niska zawartość alkaloidów w formach „słodkich” łąbinu może być spowodowana obniżoną aktywnością enzymatyczną (np. LDC), a konsekwencją tego zjawiska jest zredukowany poziom syntezy tych związków [20]. Podobne konkluzje wynikają z badań przeprowadzonych nad genetycznymi formami „słodkich” łąbinów. Niska zawartość alkaloidów tłumaczona jest tu genetycznym zablokowaniem syntezy enzymów (np. dekarboksylazy lizynowej i syntazy 17-oksosparteinoj) odpowiedzialnych za szlak metaboliczny alkaloidów [2, 20].

W pracach, w których porównywano aktywność specyficznej LDC, izolowanej z różnych części *L. albus* (korzeń, łodyga, liścień), stwierdziliśmy występowanie naj-



**Rysunek 2.** Porównanie aktywności specyficznej i całkowitej LDC izolowanej z różnych części rośliny; liczby w poszczególnych częściach rysunku (na wykresie powyżej) odpowiadają wyznaczonej aktywności specyficznej [ $u \cdot \mu g^{-1}$ ] LDC odpowiednio w korzeniach, łodydze i liściach; podane są one w przyjętej przez nas jednostce aktywności (ilość pmoli otrzymanej kadaweryny w 1  $\mu g$  białka zawartego w badanej próbce); liczby poniżej oznaczają odpowiednio całkowitą aktywność LDC [u] (aktywność specyficzna  $\times$  całkowita ilość białka)

wyższej aktywności specyficznej LDC w korzeniu (rys. 2) [1]. Konsekwencją tej obserwacji jest przyjęcie hipotezy o transporcie enzymu z korzeni do chloroplastów dla najbardziej efektywnej biosyntezy alkaloidów. Jednakże pamiętać należy, że LDC uczestniczy także w innych procesach metabolicznych, a znacząca aktywność LDC wykrywana w częściach zielonych może być w pełni wystarczająca na potrzeby biosyntezy alkaloidów chinolizydynowych.

W naszym laboratorium porównano również aktywność LDC w zależności od gatunku i wieku rośliny. W wypadku siewek 7-dniowych obserwowano brak aktywności w preparatach pochodzących z *L. luteus* (łubin słodki) i bardzo niską aktywność ( $0,14 u \cdot \mu g^{-1}$ ) w preparatach pochodzących z *L. albus* (łubin gorzki). Również preparaty z 30-dniowych roślin z *L. luteus* odznaczały się niską aktywnością LDC ( $1,2 u \cdot g^{-1}$ ). Najwyższą specyficzną aktywność tego enzymu wykryto w korzeniach *L. albus* z 30-dniowych roślin, co potwierdza wyniki wcześniej przeprowadzonych eksperymentów [2]. Brak aktywności LDC w materiale pochodzącym z siewek 7-dniowych można tłumaczyć m.in. występowaniem nieaktywnej formy LDC na tak wczesnym etapie rozwoju rośliny. W tym okresie większość potrzebnych substancji czerpana jest z materiałów zapasowych nasion, które zawierają wśród wielu innych komponentów także alkaloidy w relatywnie wysokim stężeniu.

Pomimo stwierdzenia przez wielu badaczy znaczącej roli roślinnej dekarboksylazy lizynowej w procesie biosyntezy alkaloidów chinolizydynowych nie ma do tej pory doniesienia o wyizolowaniu tego białka w formie homogennej i określenia jego sekwencji. W literaturze znanych jest jedynie kilka sekwencji LDC bakteryjnych [5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 17, 19, 22, 23, 33], z których najbardziej kompletna jest se-

kwencja pochodząca z *E. coli* (tab. 1). Kłopoty z oczyszczeniem tego białka pochodzenia roślinnego (i określeniem jego sekwencji) są prawdopodobnie spowodowane labilnością LDC oraz trudnością z uzyskaniem wymaganej ilości wysoce aktywnego homogennego preparatu. Opracowana przez nas metodyka oczyszczania oraz uzyskiwanie wysokiej aktywności oczyszczanego preparatu pozwoliły nam na otrzymanie homogennej LDC oraz na określenie sekwencji N-końcowej tego białka (tab. 1) [1].

**Tabela 1.** Podstawowe informacje na temat znanych sekwencji LDC

Organizm	Liczba aminokwasów	Kofaktor	NCBI accession number
<i>Vibrio cholerae</i>	160	—	AAD46096
<i>Eikenella corrodens</i>	709	—	AAD18126
<i>Eubacterium acidaminophilum</i>	172	—	CAA76648
<i>Synechocystis</i> sp.	483	—	BAA16789
<i>Bacillus subtilis</i>	490	PLP	AAC24937
<i>Salmonella thryphimurium</i>	715	—	AAB41260
<i>Hafnia alvei</i>	739	PLP	P05033
<i>Escherichia coli</i>	715	PLP	B41842
<i>Lupinus albus</i> — sekwencja N-końcowa	PNDXDDLXLIE	Fe <sup>+2</sup> , PLP, DTT	M. Astriab, dane niepublikowane

— brak danych.

### Podobieństwo mechanizmu aktywności LDC roślinnej z innymi dekarboksylazami

Poliaminy są to polikationowe cząsteczki odgrywające zasadniczą rolę w procesie różnicowania i wzrostu komórki. Putrescyna, będąca prekursorem poliamin, wytwarzana jest u zwierząt jedynie poprzez dekarboksylację ornityny przy udziale dekarboksylazy ornitynowej (ODC). Mechanizm tego procesu jest odmienny w poszczególnych królestwach: roślin, zwierząt i bakterii. W wypadku mikroorganizmów, oprócz wspomnianej drogi, istnieje alternatywny szlak metaboliczny. Putrescyna może być wytwarzana bowiem na drodze dekarboksylacji argininy katalizowanej przez dekarboksylazę argininową (ADC). U roślin poliaminy wytwarzane obiema drogami metabolicznymi są ważnymi modulatorami reakcji biologicznych i odpowiedzi na stres (np. osmotyczny). Mimo tak dużego znaczenia tych związków dokładny mechanizm regulacji ich biosyntezy nie jest znany. Tak jak w wypadku bio-

syntezy alkaloidów chinolizydynowych w celu zrozumienia procesów regulacyjnych i biologicznej roli poliamin duże znaczenie ma dokładna komórkowa lokalizacja enzymów odpowiedzialnych za ich syntezę. Zgodnie z obecnymi danymi na ten temat, u roślin dekarboksylaza ornitynowa zlokalizowana jest zarówno w jądrze, jak i w cytoplazmie. Podobnie jak w wypadku dekarboksylazy lizynowej wiedza na temat komórkowej lokalizacji dekarboksylazy argininowej jest niewielka. Cechą charakterystyczną obu enzymów jest także ich obecność we wszystkich częściach rośliny. Wiadomo również, że wiele fizjologicznych reakcji stymulujących i stresowych ma wpływ na aktywność enzymów uczestniczących w biosyntezie poliamin. Jakkolwiek niewiele wiadomo na temat metabolicznej i molekularnej regulacji biosyntezy tych związków, zaobserwowano, że aktywność ADC w komórkach tytoniu ulega pełnej represji przez egzogenną spermidynę lub sperminę, bez wyraźnego wpływu na aktywność ODC [3]. W obu wypadkach dokładny mechanizm regulacji aktywności i inhibicji jest, jak dotąd, nieznan. W wypadku poliamin wiadomo, że w warunkach normalnych, gdy poziom ornityny nie jest ograniczony, synteza putrescyny katalizowana jest przez ODC. Wówczas, gdy stężenie ornityny spada, synteza putrescyny (w swym pierwszym etapie) następuje poprzez dekarboksylację argininy (uwarunkowanej aktywnością ADC). W komórkach roślinnych regulacja tego szlaku metabolicznego może być zależna, np. od kompartmentacji komórki, czynników pośredniczących czy wreszcie specyficznej aktywności enzymów uczestniczących w biosyntezie. W celu zrozumienia molekularnego mechanizmu regulującego ekspresję genów ADC wykonano serię doświadczeń, wykorzystując przeciwciała poliklonalne w stosunku do dekarboksylazy argininowej [3]. Na podstawie otrzymanych rezultatów sugerowano, że spermina wpływa na syntezę ADC przez hamowanie proteolitycznych procesów posttranslacyjnych nieaktywnego prekursora ADC, w konsekwencji zmniejszając pulę aktywnej formy tego enzymu. W innym istotnym eksperymencie, przy zastosowaniu metod immunochemicznych, wskazano membrany tylakoidowe chloroplastów jako miejsce syntezy dekarboksylazy argininowej. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń możliwe stało się również zaproponowanie modelu biosyntezy putrescyny (i poliamin) w aktywnych fotosyntetycznie tkankach [3].

Berlin i Foster prezentują inne podejście eksperymentalne, w którym próbują wyjaśnić rolę dekarboksylazy lizynowej w procesie biosyntezy alkaloidów chinolizydynowych [6, 17]. Badali oni ekspresję genu bakteryjnej dekarboksylazy lizynowej oraz transport LDC do chloroplastów transgenicznego tytoniu. Wykorzystali oni dwie strategie. Pierwsza z nich opierała się na badaniu ekspresji bakteryjnego genu *ldc* w cytoplazmie, umieszczonego pod kontrolą promotora *Tr* pochodzącego z plazmidu *Ti Agrobacterium tumefaciens*. W kolejnych eksperymentach koncentrowali się na celowanym przeniesieniu LDC do chloroplastów, wykorzystując wklonowanie genu *ldc* za promotorem *rbcS* z ziemniaka, a następnie jego fuzję do regionu kodującego *rbcS* peptydu tranzytowego. Oba konstrukty genu *ldc* wprowadzili do tytoniu za pośrednictwem *A. tumefaciens*, gdzie za pomocą metod hybrydyzacji Southern i Northern wy-



kazali integrację z genomem roślinnym i transkrypcję. Wzrost aktywności enzymatycznej LDC stwierdzili jedynie w roślinie, w której zachodziła translacja mRNA, przebiegająca pod kontrolą pierwszego układu modelowego. Ekspresję i transport bakteryjnej LDC do chloroplastów transformowanego tytoniu potwierdzono poprzez obserwację znacznego wzrostu ilości kadaweryny w liściach. Wskazali również na silną korelację pomiędzy wzrostem poziomu kadaweryny a aktywnością LDC. Co ciekawe, w żadnym z badanych przypadków nie stwierdzili akumulacji białka LDC w transformowanym układzie. Przyczynę tego autorzy upatrują w niskiej aktywności translacyjnej mRNA i/lub w specyficznych procesach degradacyjnych zlokalizowanych w cytoplazmie [9]. Choć wyniki prowadzonych badań nie przesądzają o regulatorowej roli LDC w procesie biosyntezy alkaloidów, są one jednak silnym argumentem świadczącym o niewątpliwie ważnej roli tego białka w procesach regulatorowych.

## **Perspektywy i wnioski**

---

Nowe kierunki badań oraz możliwości użytkowania łubinu stanowią obecnie centrum zainteresowania dla wielu grup badawczych. Zaawansowane są prace zarówno nad ekstraktami łubinowymi i produktami odgoryczania, jak również nad procesami regulatorowymi, w których uczestniczą białka łubinowe, np. ferrytyna i LDC [2 i prace zawarte w tym opracowaniu].

Na podstawie posiadanych informacji z literatury oraz wyników własnych prac eksperymentalnych można jednoznacznie stwierdzić, że dekarboksylazy pełnią zasadniczą rolę w procesach regulatorowych biosyntezy alkaloidów. Wiedząc, że enzym ten jest istotnym czynnikiem determinującym poziom tych ważnych metabolitów w roślinie, celowe jest podjęcie prób regulacji ich biosyntezy. W wypadku gdy alkaloidy występują w roślinie jako substancje antyżywniowe, możliwe jest zastosowanie np. strategii antysensu dla obniżenia wydajności procesu ich biosyntezy. Natomiast zwiększenie efektywności i podwyższenie stężenia alkaloidów może być oczekiwane w odniesieniu do preparatów cennych i ważnych farmakologicznie. Zwiększenie liczby genów dekarboksylazy powinno zaowocować nadprodukcją enzymu, a w konsekwencji intensyfikacją syntezy alkaloidów. Z pewnością modelowy układ dekarboksylazy lizynowej stwarza wyjątkowo ciekawe możliwości poznawcze i należy mieć nadzieję, że także aplikacyjne.

- [1] Astriab M. 1998. Nucleic Acids and their Constituents. (Abstract). Scientific Publishers OWN, Poznań: 35, 103.
- [2] Astriab M. 1996. Izolacja, oczyszczanie i właściwości dekarboksylazy lizynowej (LDC) z łubinu (*Lupinus luteus* i *Lupinus albus*). W: Frencl I., Gulewicz K. (red.) Łubin: kierunki badań i perspektywy użytkowe. Polskie Towarzystwo Łubinowe i Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, Poznań: 204–211.
- [3] Borrell A., Culianez-Macia F., Altabella T., Besford R., Flores D., Tiburcio A. F. 1995. Arginine decarboxylase is localized in chloroplasts. *Plant Physiol.* 109: 771–776.
- [4] Cairo G., Tacchini L., Pogliaghi G., Anzon E., Tomasi A., Bernelli-Zazzera A. 1995. Induction of ferritin synthesis by oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 2: 700–703.
- [5] Fecker L. F., Rugenhagen C., Berlin J. 1993. Increased production of cadaverine and anabasine in hairy root cultures of *Nicotina tabacum* expressing a bacterial lysine decarboxylase gene. *Plant Molecular Biology* 23: 11–21.
- [6] Fecker L., Beier H., Berlin J. 1986. Cloning and characterisation of a lysine decarboxylase gene from *Hafnia alvei*. *Mol. Gen. Genet.* 203: 177–184.
- [7] Harborne J. B. 1982. Introduction to ecological biochemistry. Academic Press, London, New York.
- [8] Hemila H. 1991. Sequence of a PAL-related lipoprotein from *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 66: 37–41.
- [9] Herminghaus S., Schreier P. H., McCarthy J., Landsmann J., Botterman J., Berlin J. 1991. Expression of bacterial lysine decarboxylase gene and transport of the protein into chloroplasts of transgenic tobacco. *Plant Molecular Biology* 17: 475–486.
- [10] Herminghaus S., Tholl D., Rugenhagen C., Fecker L. F., Leuschner C., Berlin J. 1996. Improved metabolic action of a bacterial lysine decarboxylase gene in tobacco hairy root cultures by its fusion to a *rbcS* transit peptide coding sequence. *Transgenic Research* 5: 193–201.
- [11] Kikuchi Y., Kojima H., Tanaka T., Takatsuka Y., Kamio Y. 1997. Characterization of a second lysine decarboxylase isolated from *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 179: 4486–4492.
- [12] Kutchen T. M. 1995. The Basis for Metabolic Engineering of Medical Plants. *The Plant Cell* 7: 1059–1070.
- [13] Lemonnier M., Lane D. 1998. Expression of the second lysine decarboxylase gene of *Escherichia coli*. *Microbiology* 144: 751–760.
- [14] Leveque F., Gazeau M., Fromant M., Blanquet S., Plateau P. 1991. Control of *Escherichia coli* tytyl-tRNA synthetase expression by anaerobiosis. *J. Bacteriol.* 173: 7903–7910.
- [15] Maurelli A. T., Fernandez R. E., Bloch C. A., Rode C. K., Fasano A. 1998. „Black holes” and bacterial pathogenicity: a large genomic deletion that enhances the virulence of *Shigella* sp. and enteroinvasive *Escherichia coli*. *PNAS* 95: 3943–3948.
- [16] Munro H. N., Linder M. C. 1978. Ferritin: structure, biosynthesis and role in iron metabolism. *Physiol. Rev.* 2: 317–396.
- [17] Park Y. K., Bearson B., Bang S. H., Bang I. S., Foster J. W. 1996. Internal pH crisis, lysine decarboxylase and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *Molecular Microbiology* 20: 605–611.

- [18] Rhodes M. J. C. 1994. Physiological role for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. *Plant Molecular Biology* 24: 1–20.
- [19] Rowbury R. J. 1997. Regulatory components, including integration host factor, CysB and H-NS, that influence pH responses in *Escherichia coli*. *Lett. in App. Microbiol.* 24: 319–328.
- [20] Schoofs G., Teichmann S., Hartmann T., Wink M. 1983. Lysine decarboxylase in plants and its integration in quinolizidine alkaloid biosynthesis. *Phytochem.* 22: 65–69.
- [21] Scinto L., Daffner K., Dressler D., Ransil B. I., Rentz D., Weintraub S., Mesulam M., Potter H. 1994. A potential noninvasive neurobiological test for Alzheimer's disease. *Science* 266: 1051–1054.
- [22] Shi X., Bennett G. N. 1995. Effects of multicopy LeuO on the expression of the acid-inducible lysine decarboxylase gene in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 177: 810–814.
- [23] Shi X., Hirshfield I. N. 1996. The survival benefit of short-chain organic acids and the inducible arginine and lysine decarboxylase genes for *Escherichia coli*. *Lett. in App. Microbiol.* 22: 393–396.
- [24] Smól J., Twardowski T. 1998. Ferrytyna — specyficzne białko ochronne. *Postępy Biologii Komórki* 25: 511–524.
- [25] Southon I., Buckingham J. 1989. Dictionary of alkaloids. Chapman and Hall, London.
- [26] Tyler V. E. 1994. Herbs of choice. Haworth Press, New York.
- [27] Wink M. 1987. Alkaloids: Biochemistry, Metabolism, and Function in Plants and Cell Suspension Cultures. *Planta medica* 53: 509–514.
- [28] Wink M., Hartman T. 1981. Sites of enzymatic synthesis of quinolizidine alkaloids and their accumulation in *Lupinus polyphyllus* Z. *Pflanzenphysiol. Bd.* 102: 337–344.
- [29] Wink M., Hartmann T. 1979. Cadaverine-pyruvate transamination: the principal step of enzymatic quinolizidine alkaloid biosynthesis in *Lupinus polyphyllus* cell suspension cultures. *FEBS Letters* 101: 343–346.
- [30] Wink M., Hartmann T. 1982. Localization of the enzymes of quinolizidine alkaloid biosynthesis in leaf chloroplasts of *Lupinus polyphyllus*. *Plant Physiology* 70: 74–77.
- [31] Wink M., Hartmann T., Schiebel H. M. 1979. A model mechanism for the enzymatic synthesis of lupin alkaloids Z. *Naturforsch.* 34c: 704–708.
- [32] Wink M., Twardowski T. 1992. Allelochemical properties of alkaloids. Effects on plants, bacteria and protein biosynthesis. Allelopathy: Basic and applied aspects. Chapman and Hall, London: 129–150.
- [33] Yamamoto Y., Miwa Y., Miyoshi K., Furuyama J., Ohmori H. 1997. The *Escherichia coli* ldcC gene encodes another lysine decarboxylase, probably a constitutive enzyme. *Genes and Genetic Systems* 72: 167–172.

## **The function of lysine decarboxylase in quinolizidine alkaloids biosynthesis regulation**

---

**Key words:** lysine decarboxylase, quinolizidine alkaloids, biotic stress

### Summary

Lysine decarboxylase is a key enzyme of quinolizidine alkaloids biosynthesis. These alkaloids are characterized by either the properties of antinutritive food components and those of common drugs. The concentration of alkaloids in plants depends on biotic and abiotic stress. Alkaloids are often considered as a plant's "chemical weapon".

*Adres do korespondencji:  
prof. dr hab. Tomasz Twardowski  
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN  
ul. Noskowskiego 12/14  
61-704 Poznań  
tel. 61 852 8503 wew. 133  
e-mail: [twardows@ibch.poznan.pl](mailto:twardows@ibch.poznan.pl)*