

TRANSPORT SEKUNDÁRNÍCH METABOLITŮ PŘES ROSTLINNÉ MEMBRÁNY

JAN KUBEŠ, LENKA TŮMOVÁ a JAN MARTIN

*Katedra farmakognozie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
kubej7aa@faf.cuni.cz; tumova@faf.cuni.cz;
martin@faf.cuni.cz*

Došlo 26.2.15, přijato 7.5.15.

Klíčová slova: vakuola, membránový transport, sekundární metabolity

Obsah

1. Úvod
2. ATP-vázající kazetové transportéry
 - 2.1. Základní charakteristika
 - 2.2. Mechanismus transportu
3. Multilékové a toxiny vypuzující transportéry
4. Transport vybraných sekundárních metabolitů
 - 4.1. Alkaloidy
 - 4.2. Terpenoidy
 - 4.3. Fenolové sloučeniny
 - 4.4. Flavonoidy
5. Závěr

1. Úvod

Primární a sekundární metabolity rostlin patří mezi nepostradatelné látky nejen z pohledu potravinářského, ale i technologického (škroby, oleje) a farmaceutického. Právě z produktů sekundárního metabolismu a jejich derivátů pochází mnoho léčiv používaných ve většině oborů moderní medicíny. I přes to, že je většina přípravků v současné době vyráběna synteticky, řada dalších je stále získávána z přírodních zdrojů. Mechanismus produkce sekundárních látek v rostlinných buňkách je pro většinu důležitých struktur znám, nicméně kromě syntézy se na jejich celkovém metabolismu podílí i řada dalších faktorů, jakým je například transport nejen v rámci buňky, ale i celé rostliny.

Sekundární metabolity jsou syntetizovány v cytosolu, případně v některé organele (terpenoidy – plastidy), odkud jsou dále transportovány do míst jejich funkce nebo jsou uloženy v zásobních odděleních rostliny. Přitom musí překonávat různé buněčné membrány.

Tyto látky často mají velkou molekulovou hmotnost nebo jejich molekula může mít ve vodném prostředí rost-

linné buňky kladný nebo záporný náboj. Takové látky pak velmi těžce prostupují přes buněčné membrány, které jsou tvořeny lipidovou dvojvrstvou. Každá vrstva má oblast, která obsahuje hydrofilní periferní část a hydrofóbní jádro. Malé nepolární (N_2 , O_2) a polární molekuly bez náboje (CO_2) difundují přes membránu relativně volně podle koncentračního gradientu (semipermeabilita), zatímco nenabitá polární molekula glukosy prostupuje ve srovnání s těmito látkami pomalu. Rostlinná buňka proto využívá další mechanismy pro transport sekundárních metabolitů¹.

Látky vytvořené rostlinou mohou být transportovány přes cytoplasmatickou membránu ven a následně do jiného rostlinného orgánu jako pyridinový alkaloid nikotin. Jiné látky jsou vylučovány do okolního prostředí rostliny, kde se poté mohou podílet na tvorbě symbiózy s půdními mikroorganismy.

Kromě přenosu „ven“, jsou metabolity transportovány dovnitř vakuol. Tyto organely jsou typické pro rostlinnou buňku, kde zastávají řadu funkcí a jsou nezbytné k udržení homeostázy. Podílejí se jednak na udržování vodní bilance buňky a dále na uskladnění nejen zásobních, ale i toxických látek a některé vakuoly mají podobný účel jako živočišné lysozomy².

Následující přehled popisuje dva nejdůležitější membránové systémy pro přenos sekundárních metabolitů přes rostlinné membrány a příklady způsobu transportu vybraných skupin látek.

2. ATP-vázající kazetové transportéry

2.1. Základní charakteristika

ATP-vázající kazetové transportéry (ABC) se řadí do velké a strukturně i funkčně pestré skupiny bílkovin, které se nacházejí u všech organismů. Z hlediska stavby se jedná o integrální proteiny, které prostupují lipidovou dvouvrstvou. Tyto bílkoviny zprostředkovávají přenos látek za současné hydrolýzy adenosintrifosfátu, který slouží jako zdroj energie potřebný pro transport. Kromě toho mohou některé ABC proteiny fungovat jako iontové kanály nebo jako regulační centra pro další typy kanálů³.

ABC proteiny se skládají ze čtyř domén. První dvě jsou domény vázající nukleotid (NBD), které jsou periferně napojeny na cytoplasmatickou stranu membrán. NBD slouží ABC transportérům jako pohonné jednotky, protože se zde váže a hydrolyzuje ATP, čímž transportér získává energii k vlastnímu přenosu. V jejich struktuře se nacházejí další poddomény, které se podílejí na jednotlivých reakcích a na kontaktu mezi dalšími doménami⁴.

Zbývající dvě domény jsou transmembránové a vytváří vlastní kanál pro průchod substrátu. U exportérů se nachází stabilní počet 12 šroubovic, kdy připadá šest šrou-

bovic na jednu doménu. Některé šroubovice se nemusí podílet pouze na přenosu, ale mají funkci při ukotvení proteinu v membráně a jeho regulaci⁴.

V závislosti na stupni vývoje od prokaryot výš došlo k postupnému propojení všech čtyř domén, takže eukaryotické buňky obsahují jediný celistvý polypeptidový řetězec⁴. Mezi důležité transportéry s takto spojenou molekulou se řadí především homology s multilékovou rezistencí (MDR)⁵. Tato skupina je také známá jako PGP (homology P-glykoproteinu) a patří mezi nejrozsáhlejší podskupinu ABC transportérů. Pro rostliny jsou významné z hlediska podílu na transportu auxinu⁶, zatímco u lidí jsou často zodpovědné za rezistenci na některá léčiva⁷.

Homologa proteinu spojených s multilékovou rezistencí (MRP) představují druhou největší podskupinu ABC transportérů s celistvou molekulou. Na rozdíl od MDR se skládá z většího množství aminokyselin a tedy i velikosti⁵. Proteiny MRP byly u rostlin prvně popsány v souvislosti s přenosem látek, které byly navázány na glutathion (GSH, thiolový tripeptid γ -Glu-Cys-Gly)⁸ a jejich transport byl závislý přímo na ATP. Tvorba vazby látky s GSH je několikařázkový děj s cílem vytvořit hydrofilní sloučeninu. Nejprve nastává aktivace, kdy dochází k hydrolýze, oxidaci či redukci endogenních látek nebo xenobiotik (fáze I). Vznikají tak reaktivnější elektrofilní sloučeniny, které se samovolně či činností enzymu glutathion-S-transferasy spojují s GSH (fáze II). Následně jsou tyto konjugáty, které mohou být i toxičtější než originální látky, transportovány pomocí MRP proteinů přes membránu do cílového prostoru (fáze III)⁹. GSH kromě transportní funkce také chrání látky před oxidací a tyto látky mohou být rovněž navázány na další molekuly (glukosa, malát), které umožňují transport přes MRP (cit.^{10,11}).

Vztah mezi GSH a transportem xenobiotik závislým na ATP byl popsán u ječmene setého (*Hordeum vulgare*). U izolovaných vakuol získaných z jeho listů došlo k hromadění konjugátů herbicidu metolachloru s GSH a *N*-ethylmaleinimidu-GS při aplikaci MgATP, který se používá u transportních studií. Nehydrolyzovatelná ATP analoga či pyrofosfát vliv na transport neměly. Navíc přenos u obou konjugátů zůstal neovlivněn látkami, které zastavují činnost vakuolární protonové pumpy nebo jinak narušují protonový gradient tonoplastu⁹. Toto naznačilo, že přenos konjugátů dovnitř je zprostředkován konkrétní ATPasou. Výzkum rovněž poukázal na funkci oxidovaného glutathionu jako substrátu pro tento přenašeč, zatímco jeho redukováná forma tuto vlastnost postrádala. Následně byl tento jev a úloha glutathionových konjugátů sledována postupně s úspěchem i u dalších rostlin^{3,5}.

2.2. Mechanismus transportu

Vlastní přenos sekundárních metabolitů a dalších látek přes ABC proteiny je několikařázkový proces. Po navázání a hydrolýze ATP na NBD domény dojde k zúžení prostoru mezi spojovacími šroubovicemi domén a zmenšení vzdálenosti mezi těmito šroubovicemi pak má za následek změnu u transmembránových domén z konformace

otevřené dovnitř na konformaci otevřenou ven. Rostlinné ABC exportéry poté mohou uvolňovat na přenašeči navázané látky do okolního prostředí. Transportéry se po odloučení ADP a inorganického fosfátu navrací do stavu „pozice otevřená dovnitř“ a exportéry jsou připraveny na navázání nových látek na svá vazebná místa¹².

3. Multilékové a toxiny vypuzující transportéry

Skupina multilékových a toxiny vypuzujících transportérů (MATE) hraje také důležitou roli při transportu látek přes membránu. Bílkovina MATE transportérů se skládá ze 400 až 700 aminokyselin se sekundární strukturou nejčastěji dvanácti α -helixů prostupujících membránou¹³.

Významný rozdíl oproti ABC proteinům spočívá v odlišném způsobu přenosu látek. Přenos skrze ABC je přímo závislý na ATP, zatímco transport zprostředkovaný MATE využívá elektrochemický gradient, kdy molekula látky projde skrz přenašeč výměnou za proton¹³.

Protonový gradient je v případě vakuolárního transportu zajišťován dvojicí pump: H^+ -translokující anorganickou pyrofosfatasou (H^+ -PPasa; V-PPasa) a H^+ ATPasou (V-ATPasa). H^+ PPasa je tvořena jediným polypeptidem, který využívá jako zdroj energie pyrofosfát. Tato látka, která je jedním z vedlejších produktů různých metabolických drah, obsahuje fosfoanhydrovou vazbu s vysokou energií. Rozštěpení této vazby pak dodá potřebnou energii k transportu protonů¹⁴.

H^+ ATPasa je tvořena dvěma částmi tvořenými 13 podjednotkami. Jedna část proteinu (V_1) je umístěna periferně a podílí se na štěpení ATP. Druhá část (V_0) je součástí membrány a slouží k vlastnímu přenosu protonů. Rozdílný způsob získávání energie slouží rostlině při nedostatku ATP k udržení kyselého pH uvnitř vakuoly¹⁵.

4. Transport vybraných sekundárních metabolitů

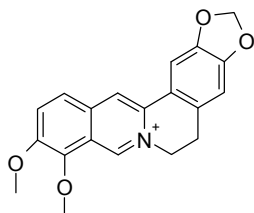
4.1. Alkaloidy

Alkaloidy jsou sekundární metabolity, které ve své molekule obsahují alespoň jeden atom dusíku. Alkaloidy se vyskytují až u 20 % rostlinných druhů a vytvářejí skupinu s velice pestrým složením a biologickou aktivitou¹⁶. Mnohé alkaloidy jsou známé pro svoji schopnost zasahovat do struktury chromosomů, replikace a transkripce DNA, dělení buněk a dalších procesů. Tyto účinky jsou využitelné v medicíně, kde mnoho léčiv pochází z přírodních zdrojů (cytostatika vinkristin a vinblastin z katarantu růžového (*Catharanthus roseus*), antiuraticum kolchicin z ocunu jesenního (*Colchicum autumnale*))¹⁷.

Jak bylo uvedeno výše, transport látek je poměrně závislý na jejich fyzikálně-chemických vlastnostech, které byly sledovány u několika různých alkaloidů vlašovičnicku většího (*Chelidonium majus*). V rámci tohoto výzkumu

byla hodnocena kritéria jako pH prostředí, teplota a lipofilita látek při přenosu do izolovaných latexových a mesofylových vakuol. V případě zásaditějšího prostředí byly bazické alkaloidy nedisociované a rovněž lipofilnější alkaloidy se více hromadily uvnitř vakuol. U latexových vesikul byla navíc pozorována přímá difuze, na rozdíl od ostatních rostlin, kde se přenosu účastnily transportní proteiny. V těchto vakuolách byla také přítomna chelidonová kyselina, která fungovala jako iontová past, která zabránila zpětnému průchodu alkaloidů¹⁸.

Mezi alkaloidy, u kterých byl způsob transportu již dobře popsán, je i cytotoxický isochinolinový alkaloid berberin. Vyskytuje se u rostlin jako žluťucha menší (*Thalictrum minus*) nebo *Coptis japonica*, které jsou vůči jeho působení odolné. Při transportních experimentech bylo pozorováno, že došlo k hromadění tohoto alkaloidu do vakuol *C. japonica*. Následně byl identifikován konkrétní MDR přenašeč odpovědný za transport berberinu na plazmatické membráně a další na tonoplastu, který již ale byl závislý na protonovém gradientu (antiport H^+ /berberin) (cit.^{19,20}).



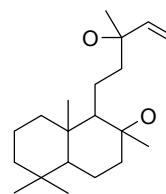
berberin

Na rozdíl od MDR proteinu *C. japonica*, který alkaloidy přijímal, katarant růžový obsahuje další přenašeč ze skupiny ABC – PDR (pleiotropní léková rezistence), který alkaloidy (katarantin) naopak z buněk exportoval na povrch listů²¹. Katarantin se navíc společně s vindolinem podílejí na tvorbě výše zmíněných cytostatik vinkristinu a vinblastinu. V případě vakuolárního transportu pak tyto terpenoidní indolové alkaloidy opět využívaly k přenosu elektrochemický gradient²².

Kromě *C. japonica* a katarantu byl přenos alkaloidů také dobře prostudován i u nikotinu v rostlině tabáku virginického (*Nicotiana tabacum*). Pyridinový alkaloid nikotin je produkován v kořenech a musí tak překonat několik bariér než se dostane do vakuol v buňkách listů. V buňkách tabákové kultury Bright Yellow-2 byl nalezen transportér patřící mezi MATE proteiny. Nikotin byl tímto transportérem v buňkách listů přenášen dovnitř vakuol, naopak z buněk kořene byl přenášen ven do vodivých svazků. Tento protein neměl substrátovou specifitu a rovněž se podílel na přenosu dalšího tabákového alkaloidu anabasinu a některých cizích alkaloidů (hyoscyamin, berberin)²³.

4.2. Terpenoidy

Terpenoidy jsou skupinou sekundárních metabolitů s více než 25 000 identifikovanými látkami. Jejich biosyntéza je založena na spojení monomerních pětiuhlíkatých jednotek, isopentenylidifosfátu a dimethylallyldifosfátu a mezi tyto metabolity se řadí jak strukturně jednoduché monoterpeny, tak i složitější látky typu saponinů nebo kardioglykosidů. Dobře popsáný transport je u diterpenu sklareolu, který se nachází v rostlinách rodu tabák (*Nicotiana*). U sklareolu byl identifikován jeden ABC protein, který je odpovědný za jeho transport na povrch listu. Orthology tohoto proteinu, nacházejícím se v plazmatické membráně, byly dále nalezeny i u huseničku rolního a závítky mnohokořenné (*Spirodela polyrrhiza*). Tyto transportéry byly navíc aktivovány při ošetření rostlin elicitory, z čehož vyplývá jejich význam při obranných reakcích rostliny^{20,24}.



sklareol

U měsíčku lékařského (*Calendula officinalis*) byly pozorovány transportní mechanismy triterpenického saponinu kyseliny oleanolové v závislosti na různém typu glykosidace. 7-Monoglukosid a 7-monoglukuronid této kyseliny se odlišovaly v citlivosti na látky, které ovlivňují způsob a pohon transportu. Přenos glukosidu se zvýšil v přítomnosti ATP a pyrofosfátu, zatímco sloučenina s glukuronidem byla ovlivněna pouze protein-modifikujícími faktory. Výsledky studie ukázaly, že přenašeč pro glukosidy oleanolové kyseliny je závislý na přísunu energie, zatímco u glukuronidů se jedná o kanál, který zprostředkovává facilitovanou difuzi. U obou látek je však potřeba určit přesný typ transportéru^{25,26}.

4.3. Fenolové sloučeniny

Mezi fenolové sloučeniny se řadí jednak relativně jednoduché sloučeniny typu fenylypropanů, kumarinů, lignanů a flavonoidů, ale také polyfenolické třísloviny. V rostlinách jsou fenolové sloučeniny přítomny s navázaným cukrem (glukosy) hraje důležitou roli v detoxifikačním procesu, který zahrnuje transport pomocí ABC proteinů z podskupiny MRP ve vakuolách¹¹. V závislosti na typu látky nebo rostliny však mohou být tyto sekundární metabolity transportovány i dalším typem transportéru (MATE).

Jedním z typických zástupců jednoduchých fenolových látek je kyselina salicylová. Po její glukosidaci

v cytoplasmě za vzniku salicyl-2-*O*-β-D-glukosidu je přenášena do vakuol sóji luštěnaté (*Glycine max*) za pomoci ABC transportéru. Odlišný transport pak byl pozorován u řepy obecné (*Beta vulgaris*), kde závisel na protonovém gradientu²⁷.

Další fenolové látky s relativně jednoduchou strukturou jsou kumariny, kam patří i skopoletin (6-methoxy-7-hydroxykumarin). Jeho transport byl sledován u buněčné linie tabáku, která ho produkuje ve větším množství. Import tohoto kumarinu do buňky byl stimulován přítomností růstového faktoru 2,4-dichlorfenoxyoctovou kyselinou. V cytosolu byl následně přeměněn na 7-*O*-glukosid skopolin a tento metabolit byl následně transportován do vakuoly na energii závislým transportérem, jehož typ nebyl zatím přesně určen. Podobným způsobem poté reagovaly i další kumariny (umbelliferon, eskuletin), u nichž byla opět splněna podmínka volné 7-hydroxyskupiny na benzenovém jádře²⁸.

4.4. Flavonoidy

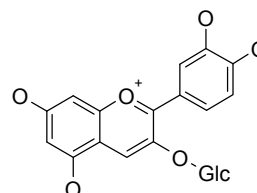
Flavonoidy jsou deriváty chromonu, ke kterému je v poloze 2, 3 nebo 4 navázán fenylový zbytek. Na molekule mohou být v různých polohách navázány hydroxylové nebo metylové skupiny, takže flavonoidy vytvářejí širokou a strukturně různorodou skupinu sekundárních metabolitů. Tyto látky jsou rostlinami využívány v mnoha procesech zahrnujících ochranu proti ultrafialovému záření, obranu, symbiózu, odlišení v barvě květu a lákání opylovačů. V rámci medicíny jsou flavonoidy především využívány pro antioxidační a protizánětlivý účinek, jako antihemorrhagika a další terapeutické efekty²⁹.

Stejně jako u alkaloidů tak i u flavonoidů se nachází transport přímo závislý na ATP i na protonovém gradientu. Jednou z podskupin flavonoidů jsou anthokyaniny, které mají náboj na kyslíku v pyranovém cyklu a uvnitř kyselé vakuoly dávají určité zbarvení, což je výhodné při výzkumu jejich transportu. Kromě huseníčku se jako modelová rostlina používá i kukuřice setá (*Zea mays*). V tomto druhu byl v membráně tonoplastu nalezen a identifikován MRP protein, který přenášel dovnitř vakuoly anthokyaniny. Tento proces rovněž vyžadoval glutathion-*S*-transferasu. Deplece tohoto enzymu u mutantů pak způsobila pozorovatelnou změnu zbarvení buněk^{30,31}.

Příklad flavonového glukosidu saponarinu také ukazuje, že transport jedné látky může probíhat u různých rostlin odlišnými způsoby. Ječmen setý, který tento flavonoid obsahuje, využívá k přenosu do vakuoly protonový antiport (pravděpodobně přes některý MATE protein). Naopak u huseníčku rolního, který saponarin nevytváří, došlo k transportu závislému na ATP. Je tedy možné, že tato rostlina vnímá saponarin jako xenobiotikum a zbavuje se ho pomocí výkonnějšího ABC transportu, stejně jako u některých herbicidů (primisulfuron)³².

Anthokyanin kyanidin-3-*O*-glukosid a flavonol epikatechin-3'-*O*-glukosid (E3'G) jsou dobře prostudováni zástupci flavonoidů z hlediska přenašečů. Jejich transport do vakuoly je zprostředkován orthology MATE proteinu,

a to jak u huseníčku rolního, tak i tolíce (*Medicago truncatula*)^{33,34}. Orthology původního MATE proteinu z huseníčku byly později nalezeny i u jabloně domácí (*Malus × domestica*) a rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*). Stejně jako u kukuřice se pak rostlinné mutanty projeví odlišným zbarvením³⁵.



kyanidin-3-*O*-glukosid

U transportu flavonoidů se také zvažuje, jaký vliv má acylace molekuly na typ transportéru. Acylované anthokyaniny u vinné révy (*Vitis vinifera*) byly přenášeny anthoMATE proteiny této rostliny. Naopak její glykosidy jako malvidin-3-*O*-glukosid nebo kyanidin-3-*O*-glukosid transportovány nebyly³⁶. Také MATE2 protein tolíce efektivněji přenášel do vakuoly ten substrát, na který byl navázán malonyl³⁷.

Na plazmatické membráně kořenů soji luštěnaté (*Glycine max*) pak byl sledován transport flavonoidů z buněk ven. Isoflavonoid genistein je součástí exudátu bobovitých rostlin, který je důležitý při tvorbě symbiózy s nitrifikačními bakteriemi v půdě. Pomocí inhibitorů a aktivátorů bylo zjištěno, že tento proces je opět závislý na ATP a tedy, že se účastní některý ABC protein³⁸.

5. Závěr

Transport sekundárních metabolitů jak v rámci buňky, tak i v celém rostlinném organismu stále představuje širokou oblast pro výzkum přenosu látek. Jak je možné vidět u zmíněných zástupců alkaloidů a flavonoidů, tak se transport jedné látky může lišit nejen mezi dvěma různými rostlinami, ale i v rámci jednoho organismu v rámci buněčné a orgánového transportu. V tomto přehledu rovněž nebyl uveden další možný způsob pohybu sekundárních metabolitů přes membrány. Jedná se o vezikulární transport, kdy jsou látky přenášeny uvnitř měchýřků např. z endoplazmatického retikula¹⁰.

Znalost mechanismů nejen syntézy, ale i navazujícího transportu sekundárních metabolitů tak může hrát významnou roli v jejich produkci a tím i větší využitelnosti. Kromě toho byla řada transportérů v rostlinách identifikována na základě příbuznosti s lidskými přenašeči. Tak se způsob jejich transportu v rostlině může teoreticky odrazet i v lidském organismu, což bude mít přínos při sledování vstřebávání léčiv odvozených z přírodních látek.

Tento článek vznikl za podpory projektu SVV 260 186.

LITERATURA

1. Brown B. S.: *Biological membranes*. The Biochemical Society, London 1996.
2. Marty F.: *Plant Cell* 11, 587 (1999).
3. Theodoulou F. L.: *Biochim. Biophys. Acta* 1465, 79 (2000).
4. Higgins C. F.: *Res. Microbiol.* 152, 205 (2001).
5. Rea P. A.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 347 (2007).
6. Noh B., Murphy A. S., Spalding E. P.: *Plant Cell* 13, 2441 (2001).
7. Pechandová K., Buzková H., Slanař O., Perlík F.: *Klin. Biochem. Metab.* 14, 196 (2006).
8. Foyer C. H., Theodoulou F. L., Delrot S.: *Trends Plant Sci.* 6, 486 (2001).
9. Martinoia E., Grill E., Tommasini R., Kreuz K., Amrhein N.: *Nature* 364, 247 (1993).
10. Zhao J., Dixon R. A.: *Trends Plant Sci.* 15, 72 (2009).
11. Klein M., Burla B., Martinoia E.: *FEBS Lett.* 580, 1112 (2006).
12. Hollenstein K., Dawson R. J. P., Locher K. P.: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 17, 412 (2007).
13. Tanaka Y., Hipolito C. J., Maturana A. D., Ito K., Kuroda T., Higuchi T., Katoh T., Kato H. E., Hattori M., Kumazaki K., Tsukazaki T., Ishitani R., Suga H., Nureki O.: *Nature* 496, 247 (2013).
14. Maeshima M.: *Biochim. Biophys. Acta* 1465, 37 (2000).
15. Schumacher K.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 22, 71 (2014).
16. De Luca V., St. Pierre B.: *Trends Plant Sci.* 5, 168 (2000).
17. Lüllman H., Mohr K., Wehling M.: *Farmakologie a toxikologie*. Grada, Praha 1999.
18. Hauser M. T., Wink M.: *Z. Naturforsch.* 45c, 949 (1990).
19. Otani M., Shitan N., Sakai K., Martinoia E., Sato F., Yazaki K.: *Plant Physiol.* 138, 1939 (2005).
20. Yazaki K.: *FEBS Lett.* 580, 1183 (2006).
21. Yu F., De Luca V.: *PNAS* 110, 15830 (2013).
22. Carqueijeiro I., Noronha H., Duarte P., Gerós H., Sotomayor M.: *Plant Physiol.* 162, 1486 (2013).
23. Morita M., Shitana N., Sawada K., Van Montagu M. C. E., Inzé D., Rischer H., Goossens A., Oksman-Caldentey K.-M., Moriyam Y., Yazaki K.: *PNAS* 106, 2447 (2008).
24. Jasiński M., Stukkens Y., Degand H., Purnelle B., Marchand-Brynaert J., Boutry M.: *Plant Cell* 13, 1095 (2001).
25. Szakiel A., Janiszowska W.: *Plant Physiol. Biochem.* 40, 203 (2002).
26. Szakiel A., Ruskowski D., Janiszowska W.: *Phytochem. Rev.* 4, 151 (2005).
27. Dean J. V., Mills J. D.: *Physiol. Plant* 120, 603 (2004).
28. Taguchi G., Fujikawa S., Yazawa T., Kodaira R., Hayashida N., Shimosaka M., Okazaki M.: *Plant Sci.* 151, 153 (2000).
29. Havsteen B. H.: *Pharmacol. Ther.* 96, 67 (2002).
30. Alfenito M. R., Souer E., Goodman C. D., Buell R., Mol J., Koes R., Walbot V.: *Plant Cell* 10, 1135 (1998).
31. Goodman C. D., Casati P., Walbot V.: *Plant Cell* 16, 1812 (2004).
32. Frangne N., Eggmann T., Koblischke C., Weissenböck G., Martinoia E., Klein M.: *Plant Physiol.* 128, 726 (2002).
33. Marinova M., Pourcel L., Weder B., Schwarz M., Barron D., Routaboul J.-M., Debeaujon I., Klein M.: *Plant Cell* 19, 2023 (2007).
34. Zhao J., Dixon R. A.: *Plant Cell* 21, 2323 (2009).
35. Takanashi K., Shitan N., Yazaki N.: *Plant Biotechnol.* 31, 417 (2014).
36. Gomez C., Terrier N., Torregrosa L., Violet S., Fournier-Level A., Verriès C., Souquet J.-M., Mazauric J.-P., Klein M., Cheynier V., Ageorges A.: *Plant Physiol.* 150, 402 (2009).
37. Zhao J., Huhman D., Shadle G., He X.-Z., Sumner L. W., Tang Y., Dixon R. A.: *Plant Cell* 23, 1536 (2011).
38. Sugiyama A., Shitan N., Yazaki K.: *Plant Physiol.* 144, 2000 (2007).

J. Kubeš, L. Tůmová, and J. Martin (*Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové*): **Transport of Secondary Metabolites across Plant Membranes**

There are many various mechanisms within plant cell for an efficient transport of metabolic products from cytoplasm to vacuole. Harmful and toxic compounds are also removed in this way. ABC (ATP-binding cassette) proteins use ATP to transport metabolites across the vacuolar membrane. MATE (Multidrug and toxic compound extrusion) proteins use a proton antiport. The type of the transporter is affected by the membrane, the transported metabolite and the structure of the molecule, which can be acetylated or bounded with glutathione. A knowledge of the transport is important for the production and distribution of secondary metabolites in plants.