

Broj 3 • septembar 2023. № 3 • September 2023.



Trendovi u **molekularnoj biologiji**
Trends in **Molecular Biology**



GODINA OD OTKRIĆA
SEKUNDARNE STRUKTURE MOLEKULA DNK



Beograd • Belgrade • 2023.
IMGGI • IMGGE

70 godina od otkrića sekundarne strukture molekula DNK	8
The 70 th anniversary of the discovery of DNA secondary structure	
Goran Brajušković	
Varijabilnost mitohondrijskog genskog pula stanovnika Republike Srbije	18
Mitochondrial gene pool variability of the residents of the Republic of Serbia	
Slobodan Davidović, Jelena M. Aleksić, Milena Stevanović i Nataša Kovačević Grujičić	
Sekvenciranje dugih fragmenata – sledeći nivo genomskih istraživanja	38
Long read sequencing – the next level in genomic research	
Dušanka Savić-Pavićević, Lana Radenković, Luka Velimirov, Nemanja Radovanović, Anastasija Ninković, Nemanja Garai, Miloš Brkušanin, Marko Panić, Jovan Pešović	
Stereotipija B-ćelijskog receptora u hroničnoj limfocitnoj leukemiji	58
B-cell receptor stereotypy in chronic lymphocytic leukemia	
Teodora Karan-Đurašević	
Sadašnjost i budućnost primene sekvenciranja nove generacije za retke bolesti	78
Present and future of next-generation sequencing application for rare diseases	
Maja Stojiljković i Jovana Komazec	
Uloga vazopresinskog sistema paraventrikularnog jedra u razvoju hipertenzije	90
The role of paraventricular nucleus vasopressin system in development of hypertension	
Bojana Stevanović, Nina Japundžić-Žigon	
Antioksidativni i antiinflamatorni efekti suplementacije orasima (<i>Juglans regia</i> L.) na srce u metaboličkom sindromu izazvanom ishranom bogatom fruktozom	106
Antioxidative and antiinflammatory effects of walnut supplementation (<i>Juglans regia</i> L.) on heart with fructose-rich diet-induced metabolic syndrome	
Maja Bubić, Maja Živković	
PHACTR1 u kardiovaskularnim bolestima: od studija asocijacije na celokupnom genomu do funkcionalnih studija	122
PHACTR1 in cardiovascular disease: from genome-wide association studies to functional studies	
Jovana Kuveljić, Tamara Djurić	
Uloga ciljanih (epi)genetičkih modifikacija u potencijalnoj terapiji dijabetesa	138
The role of targeted (epi)genetic modifications in potential diabetes therapy	
Marija Đorđević, Svetlana Dinić, Mirjana Mihailović, Aleksandra Uskoković, Nevena Grdović, Jelena Arambašić Jovanović, Melita Vidaković	
Uticaj delecije gena <i>Mif</i> na razvoj gojaznosti i steatoze jetre kod miševa na režimu ishrane obogaćene fruktozom	151
The effects of deletion of the <i>Mif</i> gene on the development of obesity and hepatic steatosis in mice on fructose enriched diet	
Ljupka Gligorovska i Ana Djordjevic	
Varijante i transkripcija gena koji kodiraju komponente leptinskog signalnog puta, inflamacije i antioksidativne zaštite u patogenezi multiple skleroze	168
Variants and transcription of genes of the leptin signaling pathway, inflammation and antioxidant protection in pathogenesis of multiple sclerosis	
Ivana Kolić, Ljiljana Stojković	
Parkinsonova bolest – dokle se stiglo?	184
Parkinson's disease – state of the art	
Jadranka Miletić Vukajlović, Dunja Drakulić	
Značaj farmakogenetike u terapijskom pristupu akutnog ishemijskog moždanog udara rekombinovanim tkivnim aktivatorom plazminogena	205
Importance of pharmacogenetics for ischemic stroke therapy with recombinant tissue plasminogen activator	
Marija Dušanović Pjević	
Beta-adrenergički receptori i kinaze uključene u proces njihove nishodne regulacije u eksperimentalnom modelu kardiomiopatije izazvane doksorubicinom	218
Beta-adrenergic receptors and kinases involved in the process of their downregulation in experimental model of cardiomyopathy induced by doxorubicin	
Marija Kosić, Zorica Nešić, Nina Žigon	
Uticaj genetičkih faktora na efikasnost i toksičnost terapije metotreksatom kod pacijenata sa reumatoidnim artritisom	232
Genetic factors impacting the efficacy and toxicity of methotrexate therapy in rheumatoid arthritis patients	
Milka Grk	
Ekstrakti briofita kao imunomodulatori	245
Bryophyte extracts as immunomodulators	
Tanja Lunić, Bojan Božić, Biljana Božić Nedeljković	
Struktura, funkcija i regulacija ekspresije gena za akvaporine pri suši kod biljaka	256
Structure, function and regulation of aquaporin gene expression during drought in plants	
Marija Đurić	
Identifikacija gena za arabinogalaktanske proteine (AGP) biljaka korišćenjem metoda mašinskog učenja	269
Identification of AGP genes of plants using machine learning methods	
Danijela Paunović	

Predgovor

Prošlo je 70 godina od otkrića sekundarne strukture molekula DNK. Od tog momenta molekularna biologija se razvija neverovatnom brzinom. „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ u svakom poglavlju pokazuju fascinantne domete koje dostiže molekularna biologija našeg vremena. I Nobelove nagrade se skoro svake godine dodeljuju za postignuća iz ove naučne discipline. A naši molekularni biolozi drže korak sa modernim trendovima. Jedan od autora ovog Zbornika govori : „Bez sumnje, ono što je otkriće elektrona bilo za 20. vek to su otkrića genomike za 21. vek.“ Autori „Trendova u molekularnoj biologiji 3“ ni najmanje ne sumnjaju u to.

Ove godine TMB3 prati i suplement, Knjiga apstrakata Drugog kongresa molekularnih biologa Srbije (CoMBoS2). Pod pokroviteljstvom Srpskog društva za molekularnu biologiju, Beograd je bio 2023. godine mesto susretanja molekularnih biologa Srbije, regiona i Evrope. Doprinos Kongresu, koji su obeležila inspirativna predavanja i inovativne naučne ideje, dali su svi molekularni biolozi Srbije. Formula uspešnosti i ovde je bila aktuelna:

„Svi za jednog, jedan za svi!“

Sonja Pavlović

Iz recenzija Tematskog zbornika *Trendovi u molekularnoj biologiji*

Treći broj *Trendova u molekularnoj biologiji* predstavlja nastavak dobre prakse prikazivanja najboljih naučnih radova mladih istraživača Republike Srbije u oblasti molekularne biologije, kao i najznačajnijih otkrića i metodoloških pomaka u ovoj oblasti. Osim ovog glavnog cilja, *Trendovi* ne zaboravljaju značajne godišnjice i podsećanja na najznačajnija dostignuća i prekretnice u razvoju molekularne biologije. Tako je u ovom trećem broju prikazan jedan od temeljnih radova u ovoj oblasti – 70 godina od otkrića sekundarne strukture DNK. Radovi koji su obeležili prošlu godinu i koji su ovde prikazani odnose se na proučavanje genoma starih humanih populacija i evolucije (Nobelova nagrada za fiziologiju i medicinu 2022), a metodološki pomak je sekvenciranje dugih fragmenata DNK.

Trendovi u molekularnoj biologiji 3 svojim sadržajem u potpunosti su opravdali naziv koji nose – prikazani radovi su tematski aktuelni, inspirativni i veoma značajni u naučnom i širem društvenom smislu. Ova publikacija predstavlja svojevrsni presek stanja u molekularnoj biologiji u Srbiji i deo je napora da se prate trendovi i drži korak sa molekularnom biologijom u svetu. Zbog značaja koji ima, nadam se da će se trend objavljivanja *Trendova* nastaviti i narednih godina.

**Dr Svetlana Radović, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu**

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ je treći broj u nizu izdanja koje ima za cilj da prikaže naučne rezultate iz oblasti molekularne biologije koje su ostvarili naučnici iz Srbije u prethodnoj godini. Sačinjen je od 18 poglavlja, od kojih 12 predstavljaju revijske radove proizašle iz doktorskih disertacija mladih doktora nauka u kojima je prikazan njihov doprinos određenoj naučnoj oblasti molekularne biologije koja je povezana sa temom njihove disertacije. Preostalih 6 poglavlja su prikazi aktuelnih tema iz molekularne biologije u kojima su naši naučnici dali svoj značajni doprinos. Uvodno poglavlje je posvećeno jubileju, sedamdesetogodišnjici od otkrića strukture molekula DNK, momentu kad je molekularna biologija krupim koracima krenula ka budućnosti, u kojoj je uz ITK tehnologije postala vodeća nauka.

Veliki broj poglavlja iz Zbornika (12) je posvećen istraživanjima iz oblasti biomedicine. To je, očigledno, najznačajnija tema za naše istraživače koji se bave molekularnom biologijom. Tu su i 3 poglavlja iz oblasti farmakogenomike, koja predstavlja najnoviji trend u medicini – personalizovana (precizna) medicina. Ova 3 rada svedoče o tome da naši naučnici prate najnovija stremljenja u medicini. Posebno treba istaći doprinos mladih istraživača iz grupe medicinskih fakulteta ovom izdanju. Čak četvoro istraživača sa Medicinskog fakulteta i jedan sa Stomatološkog fakulteta su priložili poglavlja nastala iz njihovih doktorskih disertacija. Ovo pokazuje da medicina u Srbiji prati svetske trendove. Ovaj broj Tematskog zbornika svedoči i o tome da su značajna postignuća molekularnih biologa u Srbiji donela napredak našoj medicini. Prva dva broja Tematskog zbornika „Trendovi u molekularnoj biologiji 1 i 2“ su doživela veliko interesovanje. Imala su i svoju promociju na Sajmu knjiga. Interesovanje autora da objave svoje rezultate u tematskom zborniku „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ govori da je ovaj tip publikacije nedostajao našoj naučnoj zajednici.

**Dr Vesna Škodrić Trifunović, redovni profesor,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu**

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ sadrži prikaze nekih od najznačajnijih tema u molekularnoj biologiji, počev od ovogodišnjeg jubileja - 70 godina od otkrića sekundarne strukture molekula DNK, preko odabira aktuelnosti koje su obeležile prethodnu godinu u svetu, do naučnih rezultata iz ove oblasti koje su ostvarili istraživači iz Srbije. U okviru Aktuelnih tema, sumirani su rezultati istraživanja iz oblasti fiziologije i medicine za koje je u 2022. godini dodeljena Nobelova nagrada, a odnose se na genomiku starih humanih populacija i evoluciju. Takođe, dat je i prikaz metode sekvenciranja dugih fragmenata, koja je po časopisu *Nature Methods* odabrana za metodu 2022. godine. Preostale teme su iz oblasti kojima se bave istraživači iz Srbije, a koje uključuju istraživanja iz biomedicine, farmakogenomike, kao i molekularne biologije biljaka. Važno je istaći da su mladi doktori nauka aktivno učestvovali u izradi ovog Zbornika, tako da 12 poglavlja u okviru navedenih oblasti predstavljaju revijske radove proizašle iz njihovih doktorskih disertacija odbranih u prethodnoj godini.

Značajno je da se ovaj Tematski zbornik objavljuje već treću godinu za redom, kao i to da su u njegovoj realizaciji ove godine učestvovali istraživači iz različitih naučnih instituta (3) i fakulteta (3) Univerziteta u Beogradu. Ove činjenice ohrabruju, ukazujući da u našoj zemlji postoji kontinuitet u istraživanjima u molekularnoj biologiji koja su aktuelna u svetu, uz to da su dobijeni rezultati iz ove oblasti dostupni i široj javnosti na maternjem jeziku. „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ je tematski zbornik u kome su objedinjeni rezultati fundamentalnih i primenjenih istraživanja u molekularnoj biologiji ostvarenih u našoj zemlji, iz tematskih oblasti koje su prepoznate i aktuelne u svetu.

**Dr Gordana Nikčević, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu**

Struktura, funkcija i regulacija ekspresije gena za akvaporine pri suši kod biljaka

Marija Đurić

Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ - Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Univerzitet u Beogradu

Kontakt: marija.djuric@ibiss.bg.ac.rs

Apstrakt

Povećanje prosečnih godišnjih temperatura iz godine u godinu za posledicu ostavlja sve izraženije sušne sezone. Suša nepovoljno utiče na rasteenje i razviće biljaka, uzrokujući velike ekonomske gubitke na globalnom nivou. Efekti suše ispoljavaju se kako na morfološkom, tako i na fiziološkom, biohemijskom i molekularnom nivou organizacije biljaka. Izlaganje biljaka suši narušava normalan transport vode kroz ćelije što se odražava i na zastupljenost i funkciju kanala za vodu – akvaporina, na membranama. Akvaporini su transmembranski proteini koji formiraju kanale za prolazak vode i drugih molekula kroz ćelijske membrane. Ispoljavaju veoma značajnu ulogu u prilagođavanju protoka vode kroz ćelije shodno fiziološkom stanju. S obzirom na to, poslednjih godina velika pažnja posvećena je ulozi akvaporina pri odgovorima biljaka na dejstvo suše i drugih abiotičkih stresogenih faktora koji utiču na narušavanje vodnog režima biljaka. Istraživanja su usmerena ka praćenju promena u ekspresiji gena za akvaporine, zastupljenosti akvaporina na membranama i uticaju na usvajanje, transport i odavanje vode u atmosferu. U ovom radu predstavljene su analize strukture i regulacije ekspresije gena za akvaporine, kao i naučna istraživanja u proteklih deset godina o promenama u ekspresiji gena za akvaporine kod biljaka izlaganih suši. Poseban akcenat stavljen je na rezultate bioinformatičkih analiza akvaporina kod hortikulture vrste *Impatiens walleriana*, i njihovu ekspresiju pri suši i rehidraciji.

Ključne reči: *Impatiens walleriana*, suša, akvaporini, genska ekspresija

Structure, function and regulation of aquaporin gene expression during drought in plants

Marija Đurić

Institute for biological research „Siniša Stanković“, National institute of Republic of Serbia,

University of Belgrade

Correspondence: marija.djuric@ibiss.bg.ac.rs

Abstract

The increase in average annual temperatures from year to year results in pronounced dry seasons. Drought adversely affects the plants growth and development, causing large economic losses on a global scale. The effects of drought are manifested both at the plant morphological, as well at the physiological, biochemical and molecular levels. Exposure of plants to drought disrupts the normal water transport through the cells, which is reflected in the presence and function of water channels - aquaporins, on the membranes. Aquaporins are transmembrane proteins that form channels for the water, and other molecules flow through cell membranes. They play a very important role in adjusting the water flow through the cells according to the physiological state. In view of this, in recent years much attention has been paid to the role of aquaporins in plant responses to drought and other abiotic stress factors, which affect the disruption of the water regime of plants. Researches are aimed at monitoring changes in the expression of genes for aquaporins, the presence of aquaporins on membranes and the influence on the absorption, transport and release of water into the atmosphere. This paper presents analyzes of the structure and regulation of aquaporin gene expression, as well as scientific research over the past ten years on changes in aquaporin gene expression in plants exposed to drought. Special emphasis was placed on the results of bioinformatic analyzes of aquaporins in the horticultural species *Impatiens walleriana*, and their expression during drought and rehydration.

Key words: *Impatiens walleriana*, drought, aquaporins, gene expression

Uvod

U početku, nakon otkrića strukture ćelijske membrane 1920-ih godina, smatralo se da je protok vode između ćelija i tkiva posredovan jednostavnom difuzijom. Međutim, difuzija kroz membrane sa lipidnim dvoslojem je fiziološki vrlo spor proces i ne može podržati brzi transport većih količina vode. Stoga je predložena ideja o prisustvu specijalizovanih pora, odnosno kanala za transport vode. Pretpostavka je najpre potvrđena otkrićem transmembranskog proteina u humanim eritrocitima 80-ih godina prošlog veka [1], dok su malo kasnije slični proteini otkriveni i kod biljaka [2]. Danas je struktura i funkcija ovih proteina u velikoj meri proučena, a zajednički naziv za grupu proteina sa sličnom strukturom i funkcijom u transportu vode i drugih manjih molekula je akvaporini (eng. *Aquaporins* – AQP). Akvaporini predstavljaju najveću grupu proteina uključenih u transport vode i drugih molekula u skoro svim živim organizmima. Često se nazivaju i “kanali za vodu” [3].

Regulisanje transporta vode u biljkama i između biljaka i spoljašne sredine je od vitalnog značaja kako u optimalnim, tako i u stresnim uslovima [4]. S obzirom na to da biljke nemaju specijalizovan cirkulatorni sistem, oslanjaju se u potpunosti na funkciju akvaporina. Posebno je značajno adekvatno regulisanje transporta vode prilikom izlaganja biljaka abiotičkim stresogenim faktorima koji izazivaju dehidraciju tkiva, poput suše. Povećanje prosečnih godišnjih temperatura i sve izraženije sušne sezone iz godine u godinu, rezultuju u velikom broju istraživanja o uticaju ovog stresogenog faktora na rastenje i razviće biljaka [5, 6, 7]. Može se reći da je suša (vodni deficit) jedan od najznačajnijih i najčešće istraživanih abiotičkih stresogenih faktora u fiziologiji stresa kod biljaka. Suša neminovno utiče na usvajanje vode korenovim sistemom, transport vode kroz ćelije i tkiva, kao i na odavanje vode u atmosferu. Ovakve promene posredovane su promenama u ekspresiji gena za akvaporine i njihovoj zastupljenosti i funkciji na biološkim membranama.

Struktura akvaporina i rasprostranjenost kod biljaka

Akvaporini su članovi velike familije membranskih proteina – MIP (eng. Major Intrinsic Proteins) i zastupljeni su u skoro svim živim organizmima izuzev termofilnih arhea i intracelularnih bakterija [8]. Najveći broj akvaporina u svojoj strukturi sadrži šest transmembranskih domena koji imaju sekundarnu strukturu α -heliksa (**Slika 1**) [9], ali identifikovani su i akvaporini sa manje od 5, 5 ili 7 transmembranskih domena [10, 11]. Međutim, ovakvi rezultati proističu iz bioinformatičkih *in silico* analiza struktura akvaporina i nisu potvrđeni eksperimentalno. Petlje A-E povezuju transmembranske domene u okviru jednog monomera akvaporina. U okviru strukture akvaporina, NPA motivi (ponovci aminokiselina asparagin-prolin-alanin na petljama B i E) su najvažniji delovi jer formiraju centralnu poru za prolazak vode i različitih molekula. Pored NPA motiva, važne segmente za protok vode predstavljaju i a/R regioni formirani od po jednog aminokiselinskog ostatka heliksa 2 i 5 i dva aminokiselinska ostatka petlje E. Varijabilnost na ar/R filteru, NPA motivima, kao i razmaku između NPA motiva utiče na supstratnu specifičnost biljnih akvaporina. Pored navedenih filtera i NPA motiva, postoje dodatni regioni koji takođe igraju važnu ulogu u specifičnost akvaporina za transport, poznati kao Frogerovi ostaci. Frogerovi ostaci razlikuju akvagliceroporine koji transportuju glicerol i akvaporine koji transportuju vodu [12]. Funkcionalni akvaporin predstavlja tetramernu strukturu koju čine četiri ujedinjena monomera stabilizovana interakcijama preko vodoničnih veza i interakcijama između petlji monomera (**Slika 1**).

Raznolikost akvaporina u biljkama je toliko izražena da se ovi proteini mogu klasifikovati u sedam podfamilija na osnovu njihove lokalizacije i strukture: PIPs (eng. *Plasma membrane Intrinsic Proteins*) – akvaporini zastupljeni na plazma membranama, TIPs (eng. *Tonoplast Intrinsic Proteins*) – akvaporini

zastupljeni na tonoplastu, NIPs (eng. *Noduline like Intrinsic Proteins*) – nodulinu-26 slični akvaporini, GIPs (eng. *GlpF-like proteins*) – akvaporini koji transportuju glicerol, HIPs – hibridni akvaporini (eng. *Hybrid Intrinsic Proteins*), SIPs (eng. *Small basic Intrinsic Proteins*) – mali akvaporini, XIPs (eng. *X Intrinsic Proteins*) – nedovoljno okarakterisani akvaporini [4]. Članovi GIPs podfamilije i hibridni akvaporini su pronađeni kod mahovina i prečica dok ih kod viših biljaka nema, ukazujući na verovatni gubitak tokom evolucije [13, 14]. Svaka podfamilija akvaporina dalje se deli na različite podgrupe koje obuhvataju različite izoforme. Akvaporini su lokalizovani u gotovo svim unutarćelijskim membranama biljaka, uključujući plazma membranu, tonoplast, membranu endoplazmatskog retikuluma, Goldžijevog aparata i hloroplasta [15]. Takođe, iste izoforme mogu biti zastupljene na više različitih membrana [16].

Podfamilija PIPs je podeljena u dve podgrupe - PIP1 i PIP2 i generalno predstavljaju najveću podfamiliju akvaporina [17, 9]. Razlike između PIP1 i PIP2 podgrupa ogledaju se u dužem N-terminalnom regionu PIP1 izoformi, dok članovi PIP2 podgrupe pokazuju izduženiji C-terminalni domen [18]. Ovi akvaporini se nalaze isključivo na plazma membranama i imaju molekulsku masu od približno 30 kDa. Članovi PIP1 podgrupe mogu transportovati manje molekule ili gasove, a takođe imaju i aktivnost kanala za vodu koja je uglavnom posredovana interakcijama sa drugim akvaporinima, prvenstveno članovima PIP2 podgrupe [19, 20]. Članovi PIP2 podgrupe su zapravo glavni kanali za transport vode što je verovatno povezano sa njihovom strukturnom razlikom u odnosu na izoforme PIP1 podgrupe [21]. Članovi TIPs podfamilije mogu se grupisati u pet podgrupa (TIP1, TIP2, TIP3, TIP4 i TIP5) [17, 4, 9]. Izoforme se nalaze prvenstveno na membrani vakuole (tonoplast) i učestvuju u transportu vode i manjih molekula (glicerol, urea, amonijak) kroz tonoplast, deluju na osmotsko prilagođavanje i regulaciju turgora u ćelijama. Molekulska masa izoformi TIPs podfamilije se kreće između 25 i 28 kDa. Akvaporini podfamilije TIPs su zapravo najzastupljeniji proteini na membranama vakuola [22], što objašnjava zašto je propustljivost tonoplasta za vodu i druge molekule veća od plazma membranske, omogućavajući na taj način brzo osmotsko prilagođavanje i održavanje turgora ćelija. U podfamiliji NIPs okarakterisano je sedam podgrupa (NIP1, NIP2, NIP3, NIP4, NIP5, NIP6, NIP7) [23, 9], čije su izoforme zastupljene na plazma membranama i membranama endoplazmatskog retikuluma. Pokazano je da mogu da transportuju vodu i glicerol, s tim što je permeabilnost za vodu manja [17]. Podfamilija sa najmanjim brojem članova je SIPs podfamilija, koja obuhvata dve podgrupe – SIP1 i SIP2 [21, 17, 9]. Istraživanja ukazuju da SIPs izoforme učestvuju u transportu vode kroz endoplazmatski retikulum [24]. Najskorije otkrivena podfamilija akvaporina je XIPs koja obuhvata četiri podgrupe - XIP1, XIP2, XIP3, i XIP4 [25, 9]. Izoforme XIPs podfamilije identifikovane su kod mahovina, prečica i skrivenosemenica, ali je zanimljivo da je u okviru skrivenosemenica prisustvo potvrđeno samo kod dikotiledonih biljaka, isključujući monokotile i model biljku *Arabidopsis thaliana* [26, 27]. Locirani su na plazma membranama i učestvuju u transportu manjih molekula uključujući glicerol, ureu, bornu kiselinu, ali ne i u transportu vode [28].

Funkcija i regulacija ekspresije i aktivnosti akvaporina

Sa funkcionalne tačke gledišta, postoji veliki broj istraživanja o višestrukim ulogama biljnih akvaporina. Pored svoje funkcije kanala za transport vode, neki akvaporini takođe mogu olakšati transport drugih molekula od značajne fiziološke važnosti. Dakle, pokazano je da pored vode, akvaporini mogu da transportuju i CO₂, glicerol, ureu, amonijak, metale i metaloide, O₂, čak i reaktivne forme kiseonika – ROS (eng. *Reactive Oxygen Species*) [29, 9]. Regulacija transporta kroz kanale akvaporina je kompleksna i obuhvata različite mehanizme i faktore. Prvi podaci o funkciji akvaporina u biljkama proizlaze iz studija ekspresije gena u različitim ćelijama, tkivima i organima nakon izlaganja različitim uslovima fizičkih faktora [30]. Funkcija akvaporina zavisi od dejstva abiotičkih (suša, temperaturni stres, salinitet, teški metali) i biotičkih stresoro-

genih faktora (patogene infekcije, napadi herbivora), genotipa, tipa organa i razvojne faze, te je shodno tome i njihova regulacija ekspresije regulisana različito [9]. Osim toga, jedna izoforma može imati više funkcija zavisno od njene tkivne ili subćelijske lokalizacije [31, 32]. Ekspresija gena za akvaporina regulisana je različitim signalnim putevima i kroz komplikovane procese regulacije transkripcije, translacije i post-translacionih modifikacija, rezultuje u teškom sagledavanju standardnog obrasca ekspresije za svaki pojedinačni gen. Mehanizam otvaranja i zatvaranja akvaporina regulisan je transkripcionim i post-translacionim modifikacijama poput fosforilacije, metilacije, acetilacije, deaminacije i glikozilacije [33]. Na primer, pokazano je da je fosforilacija akvaporina na određenim aminokiselinskim ostacima odgovorna za pojačanu aktivnost, odnosno otvaranje kanala za transport [34, 35, 36]. Navedene modifikacije koje regulišu aktivnost akvaporina su pod direktnom kontrolom biljnih fitohormona [37]. Biljni hormoni su endogeni produkti male molekulske mase i odgovorni su generalno za sve procese rastenja i razvića biljaka, kao i za reakcije biljaka na dejstva različitih stresogenih faktora. Uopšteno, na aktivnost akvaporina utiču fitohormoni giberelini, apscisinska kiselina, citokinini, brasinosteroidi, jasmonati, auksini, etilen i salicilna kiselina [38, 39, 40]. Pored toga, pokazano je da na aktivnost akvaporina može da utiče i promena u pH vrednosti ćelije kao i delovanje određenih hemijskih supstanci [21, 30]. Interakcije između spoljašnjih i unutrašnjih signala menjaju aktivnost gena za akvaporine i vode ka fiziološkom odgovoru koji biljci u datom momentu obezbeđuje maksimalnu adaptiranost na uslove spoljašne sredine.

Ekspresija gena za akvaporine kod biljaka izlaganih suši

S obzirom da većina abiotičkih stresogenih faktora vodi ka dehidraciji tkiva, velika pažnja posvećena je promenama u ekspresiji gena za akvaporine. Najveći broj radova u poslednjih deset godina vezan je za istraživanja na vrstama koje se komercijalno uzgajaju ili na neki način imaju značaj za život ljudi i ishranu životinja. Istraživanja su u najvećoj meri obuhvatala analize ekspresije gena za akvaporine iz podfamilija PIP i TIP, u korenovima ili izdancima.

Kod leguminoze *Galega orientalis* je pokazano da je *PIP1* gen povezan sa tolerancijom na sušu [41]. Naime, gen *GoPIP1* je ispoljavao povećanu ekspresiju u korenovima vrste pri natrijum hloridom (NaCl)- i polietilen glikolom (PEG)- om indukovanoj dehidraciji. Promene u ekspresiji šest gena za akvaporine ispitivane su kod osetljivih i tolerantnih kultivara leblebije (*Cicer arietinum*) izlaganih stresu suše [42]. Rezultati su ukazali da se ekspresija analiziranih gena razlikuje između kultivara u optimalnim uslovima, a takođe i prilikom izlaganja biljaka suši. Naime, ekspresija nekih gena je bila nepromenjena pri suši, dok su određeni geni ispoljavali tendenciju porasta ekspresije, ali i njene redukcije kod oba tipa kultivara. U sličnom istraživanju, autori Hussain i sar. [43] ukazuju na pozitivnu korelaciju između povećane ekspresije *CaPIP2;4* i *CaNIP3;1* izoformi i tolerancije prema suši tolerantnog genotipa leblebije. Takođe, ekspresija *PIP1;1* i *PIP2;1* kod šumske jagode (*Fragaria vesca*) bila je pod uticajem suše i menjala se sa promenom količine vlažnosti u supstratu [44]. U sličnom istraživanju na hibridu jagode (*Fragaria x ananassa*), kod tolerantnijeg kultivara ispoljena je povećana ekspresija određenih TIP izoformi u korenu u odnosu na osetljiviji kultivar tokom suše [45]. Promene u ekspresiji deset gena za akvaporine podgrupa PIP1 i PIP2 analizirane su kod različitih kultivara pirinča (*Oryza sativa*), a uočene su značajne razlike u ekspresiji među kultivarima kako u optimalnim tako i u stresnim uslovima [46]. Autori Hasan i sar. [47] ispitivali su povezanost ekspresije gena za akvaporine i efikasnost korišćenja vode (eng. *Water Use Efficiency* - WUE) u uslovima suše kod manje tolerantnog kukuruza (*Zea mays*) i tolerantnog sirka (*Sorgum bicolor*). Uočeno je da su morfološki (sveža masa, suva masa) i fiziološki parametri (relativni sadržaj vode u listovima, razmena gasova) više redukovani kod kukuruza u odnosu na sirak. Takođe, kod kukuruza WUE je značajno fluktuirao tokom dana u uslovima suše, dok je kod sirka

ispoljavao relativno konstantne vrednosti. Takođe analizirana je ekspresija četiri izoforme akvaporina kod obe vrste (*PIP1;5*, *PIP1;6*, *PIP2;3* i *TIP1;2*). Autori su zaključili da povećana ekspresija gena za akvaporine *PIP1;5* u listovima i *PIP2;3* u korenovima sirka u uslovima suše verovatno doprinosi i konstatnom WUE, a samim tim i većoj toleranciji prema suši u poređenju sa kukuruzom. Na osnovu promena u ekspresiji šest gena za akvaporine kod dve vrste jabuke (tolerantan genotip - *Malus prunifolia* i osetljiv genotip - *Malus hupehensis*), uočena je veća ekspresija skoro svih gena u korenovima i određenih gena za akvaporine u listovima osetljivog genotipa *M. hupehensis* u poređenju sa tolerantnim. Zaključeno je da osetljiviji genotip na taj način kompenzuje veći gubitak vode u cilju bolje apsorpcije i protoka između ćelija i tkiva [48]. Kod biljaka kafe (*Coffea arabica*), povećana ekspresija *CaTIP1;2* u korenu bila je korelisana sa povećanom hidrauličnom provodljivošću korena pri umerenom vodnom deficitu [49]. U istraživanju na kultivarima pirinča pokazano je da nebalansirana ekspresija akvaporina u listovima i korenovima redukuje WUE u optimalnim i sušnim uslovima [50]. Ekspresija većine analiziranih akvaporina bila je veća u listovima, a sušom je dodatno indukovana, bez korelacije sa promenama ekspresije u korenu. Naime, nakon odsecanja korenova 3 cm od vrha, povećan je intenzitet fotosinteze kao i WUE posle 4 h ukazujući da je WUE kod pirinča limitiran neadekvatnom ekspresijom gena za akvaporine u korenu. Razlike u toleranciji prema suši između kultivisanih sorti i divljih srodnika kruške (*Pyrus sp.*) između ostalog su i posledica različite ekspresije gena za akvaporine podgrupa PIP1 i PIP2 [51].

Uloga akvaporina u odgovorima biljaka na sušu ispitivana je i kod hortikulturnih vrsta, mada su literaturni podaci jako oskudni. Pokazano je da akvaporin RhPIP2;1 kod ruže (*Rosa harvensis*) interaguje sa transkripcionim faktorom RhPTM i utiče na njegovu translokaciju pri suši, pospešujući na taj način toleranciju biljaka na ovaj stress [52]. Sa druge strane, promene u ekspresiji gena za akvaporine kod hortikultutnih vrsta su slabo proučavane. U jednom istraživanju autora Wei i sar. [53] uočeno je da je veliki broj gena za akvaporine ispoljavao transkripcione promene kao odgovor na sušu kod hortikulturne vrste *Citrus sinensis*, a mnogi od ovih gena su pokazivali i kontrastne profile ekspresije između tolerantnih i osetljivih kultivara. Posebno je značajna uloga ovih proteina kod hortikulturnih vrsta veoma osetljivih i na male nedostatke vode u podlozi, kao što je *Impatiens walleriana*. Pomenuta biljna vrsta se komercijalno uzgaja u Srbiji dugi niz godina, a njen značaj u hortikulturi se ogleda i na globalnom nivou. S obzirom da vrstu odlikuju brze fluktuacije u vodnom režimu pri suši, istraživanja u našoj laboratoriji godinama su usmerena ka razjašnjavanju fizioloških, biohemijskih i odgovora na molekularnom nivou, kao i pronalaženju načina za povećanje tolerancije biljaka prema suši [54, 55, 56, 57, 58, 59]. U tom kontekstu, akvaporini su nedvosmisleno ušli u razmatranje za analizu ekspresije njihovih gena prilikom izlaganja *I. walleriana* suši, u cilju definisanja veze između njihove ekspresije i morfo-fizioloških odgovora biljaka. Na osnovu sekvenciranog transkriptoma *I. walleriana* (RNaseq) izabrane su genske sekvence akvaporina koji pripadaju PIP i TIP podfamilijama, za čije članove je pokazano da su funkcionalni kanali za vodu kod drugih biljnih vrsta. Nakon provere funkcionalnosti prajmera za izabrane sekvence u najuži izbor ušle su tri plazma-membranske izoforme (*IwPIP1;4*, *IwPIP2;2*, *IwPIP2;7*) i jedna tonoplastna izoforma (*IwTIP4;1*). Sekvence su podvrgnute bioinformatičkim analizama da bi se najpre izvršila njihova karakterizacija, a potom i eksperimentalna provera. Na osnovu dobijenih rezultata za broj aminokiselina, molekulska masu, izoelektričnu tačku, indeks stabilnosti i subćelijsku lokalizaciju, zaključeno je da svi analizirani akvaporini imaju tipične osobine članova MIP superfamilije [57]. Daljim analizama, definisan je broj transmembranskih regiona i stereoheimijske osobine proteina, konstruisani 3D modeli kanala za vodu pojedinačnih monomera, kao i tetramerne strukture holoproteina. Na **Slici 2** predstavljeni su rezultati analiza transmembranskih regiona *I. walleriana* akvaporina (**Slika 2 A**), kao i 3D modeli pojedinačnih monomera u membrani (**Slika 2 B**) i holoproteina (**Slika 2 C**).

Prilikom izlaganja *I. walleriana* suši i rehidraciji uočene su promene u ekspresiji gena za akvaporine [57, 60]. Suša je ispoljavala najveći uticaj na redukciju ekspresije gena *lwPIP2;7*, naročito pri umerenom intenzitetu stresa (15% sadržaja vode u supstratu), dok je pri rehidraciji ekspresija svih analiziranih gena bila indukovana (**Slika 3A**). Redukcija ekspresije gena pri suši objašnjena je kao doprinos smanjenju protoka, a samim tim i odavanju vode u atmosferu putem transpiracije, dok je sa druge strane, povišena ekspresija svih gena tokom procesa rehidracije objašnjena kao doprinos vraćanju homeostaze i boljem protoku vode kroz ćelije nakon stresnog perioda. U ovom istraživanju pokazano je da suša i rehidracija regulišu ekspresiju gena za akvaporine kod *I. walleriana* na različite načine, obezbeđujući u datom momentu najoptimalniji odgovor biljaka. U sličnom istraživanju na ovoj biljnoj vrsti, pokazano je da akvaporini mogu biti regulisani i biljnim hormonima. Naime, folijarna primena metil jasmonata (MeJA) u predtretmanu, indukovala je različit odgovor u ekspresiji gena za akvaporine *I. walleriana* tokom suše (**Slika 3B**) [59]. Folijarni predtretman MeJA vršen je sa ciljem pospešivanja odgovora i performansa biljaka prilikom izlaganja suši, a vršen je dva puta pre nastupanja stresnog perioda u razmaku od 7 dana. Uočeno je da folijarni tretman MeJA u koncentraciji od 50 μM , najviše indukuje ekspresiju *lwPIP1;4* gena pri umerenoj i intenzivnoj suši, i *lwPIP2;7* pri intenzivnoj suši, dok je ekspresija izoformi *lwPIP2;2* i *lwTIP4;1* ispoljavala ne tako izražene promene. Ovakvi rezultati ukazuju da ekspresija akvaporinskih izoformi može da bude različito regulisana pri dejstvu stresogenog faktora suše koji je prethodno modulisan dejtvom egzogeno primenjenog fitohormona MeJA.

U poslednjih deset godina, metode genetičkog inženjerstva pružile su dodatne informacije o funkciji pojedinih gena za akvaporine i omogućile dobijanje transgenih biljaka tolerantnih na sušu. Manipulacijom genima za akvaporine pokazano je da akvaporini mogu da povećavaju hidrauličnu provodljivost korena a sa druge strane da ograniče transpiraciju, težeći ka održanju homeostaze u biljnim ćelijama. Iz tog razloga, nalaze primenu u biotehnologiji odnosno genetičkom inženjerstvu za postizanje tolerancije biljaka na abiotičke stresogene faktore. Povećana ekspresija gena *PIP1;1* poreklom iz banane u *A. thaliana* je uticala na povećanu toleranciju biljaka prema suši [61]. Transgene biljke imale su veću stopu preživljavanja, razvijeniji korenov sistem i veći broj korenskih dlačica. Takođe transgena *A. thaliana* sa povećanom ekspresijom gena *FaPIP2;1* iz trave *Festuca arundinacea* ispoljavala je toleranciju na sušu, posredovanu povećanim brojem listova po biljci, relativnim sadržajem vode u listovima, intenzitetom fotosinteze i povećanom stopom preživljavanja u odnosu na netransformisane biljke [62]. Slični rezultati opisani su i u istraživanju autora Wang i sar. [63] gde je pokazano da *A. thaliana* transformisana *MzPIP2;1* genom iz hibrida jabuke (*Malus zumi*) ispoljava povećanu toleranciju prema suši. Transgeni krompir (*Solanum tuberosum*) sa povećanom konstitutivnom ekspresijom gena *StPIP1* bio je tolerantniji prema suši i imao veću efikasnost korišćenja vode, kao i sadržaj ugljenih hidrata u krtolama [64].

Zaključak

Akvaporini imaju veoma bitnu ulogu u biljnoj fiziologiji a istraživanja poslednjih decenija pružila su jasniji uvid u njihovu strukturu i funkciju. Identifikovan je veliki broj izoformi akvaporina i opisane su njihove funkcije u transportu vode i drugih molekula, kao i regulacija njihove ekspresije. Pokazano je da mnogobrojni činioci podstiču ili inhibiraju ekspresiju gena za akvaporine u biljkama, kao i da različite post-translacione modifikacije i fizički uslovi utiču na aktivnost proteina. Interakcije između spoljašnjih i unutrašnjih signala menjaju aktivnost gena za akvaporine i vode ka fiziološkom odgovoru koji biljci u datom momentu obezbeđuje maksimalnu prednost. S obzirom da većina abiotičkih stresogenih faktora, a naročito suša, vodi ka dehidraciji tkiva, velika pažnja posvećena je promenama u ekspresiji gena za akvaporine tokom izlaganja biljaka pomenutom abiotičkom stresogenom faktoru. Kod različitih biljnih vrsta primećen je različit

obrazac ekspresije gena za akvaporine pri suši u istraživanjima sprovedenim u proteklih deset godina. Najveći broj istraživanja vezan je za biljne vrste značajne u ishrani ljudi i životinja, dok skorašnja istraživanja na vrsti *I. walleriana*, osetljivoj na dejstvo suše, ukazuju i na značaj akvaporina u prilagođavanju transporta vode kod hortikulturnih biljaka.

Zahvalnica

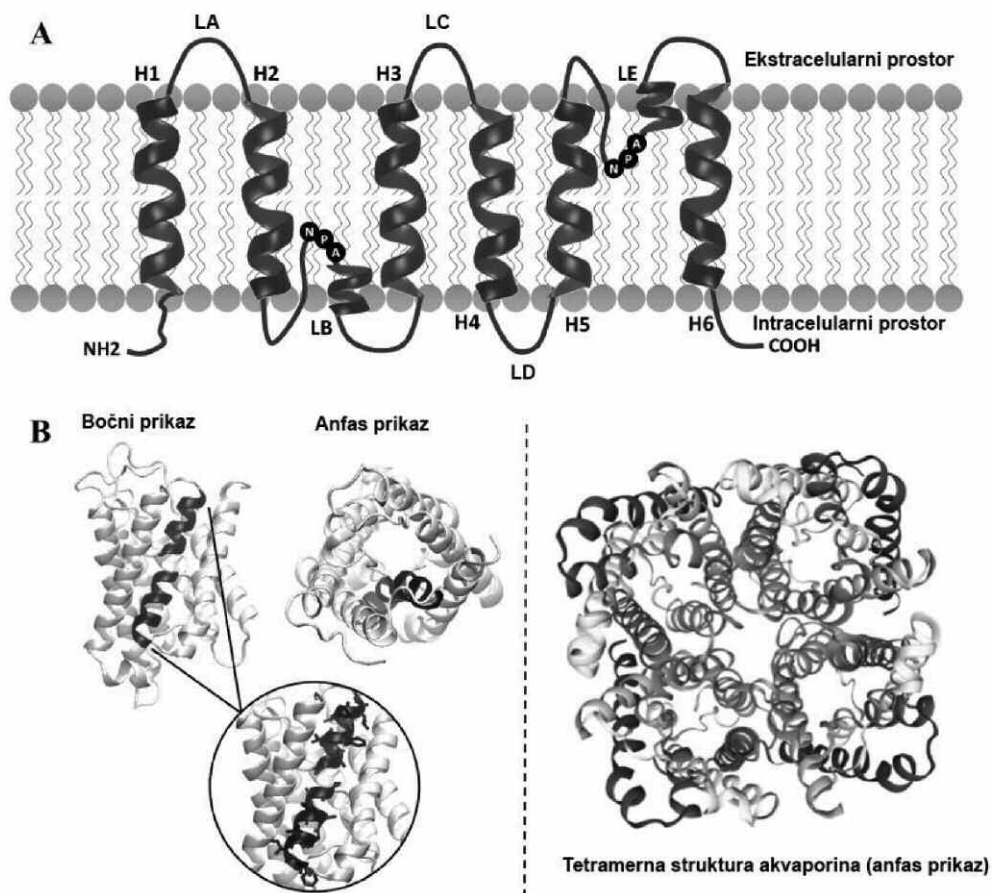
Ovaj rad je realizovan pod pokroviteljstvom Ministarstvo nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije, broj ugovora: 451-03-47/2023-01/200007.

Literatura

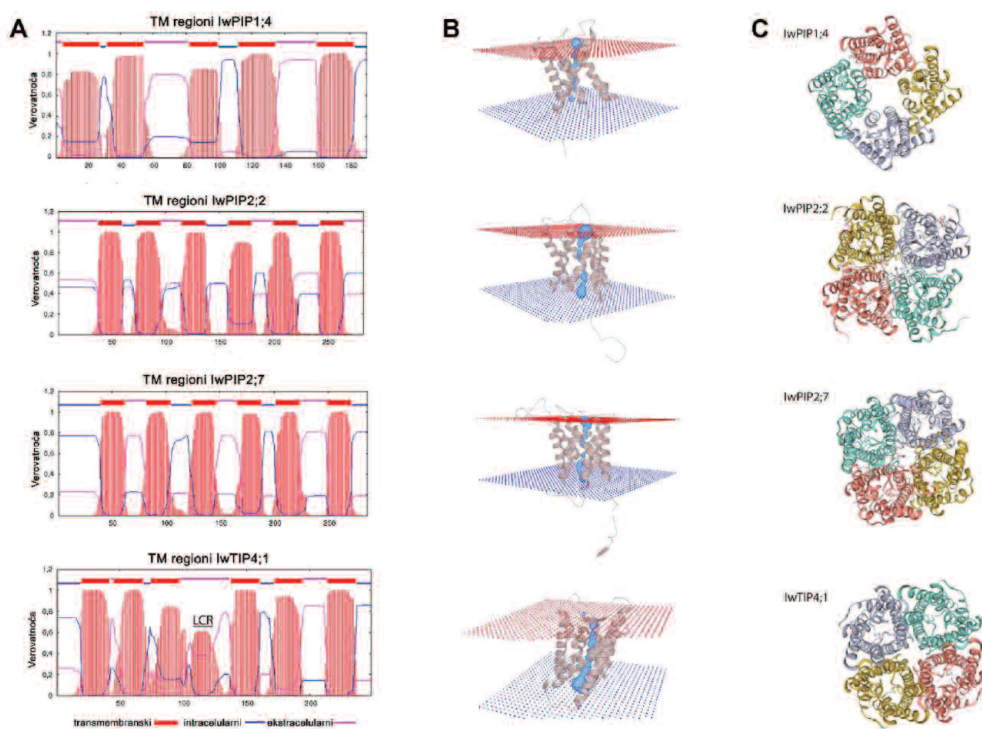
1. Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP, & Agre P. Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *Journal of Biological Chemistry* 1988; 263(30): 15634-15642.
2. Fortin MG, Morrison NA, & Verma DPS. Nodulin-26, a peribacteroid membrane nodulin is expressed independently of the development of the peribacteroid compartment. *Nucleic acids research* 1987; 15(2): 813-824.
3. Šurbanovski N, & Grant OM. The Emerging Role of Aquaporins in Plant Tolerance of Abiotic Stress. In *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance*. Academic Press; 2014. pp. 431-447.
4. Banerjee A, & Roychoudhury A. The role of aquaporins during plant abiotic stress responses. In *Plant Life Under Changing Environment*. Academic Press; 2020. pp. 643-661.
5. Farooq M, Hussain M, Wahid A, & Siddique KHM. Drought stress in plants: an overview. *Plant responses to drought stress: From morphological to molecular features* 2012; 1-33.
6. Salehi-Lisar SY, & Bakhshayeshan-Agdam H. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. *Drought Stress Tolerance in Plants. Physiology and Biochemistry*, 2016; Vol 1: 1-16.
7. Yang X, Lu M, Wang Y, Wang Y, Liu Z, & Chen S. Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae* 2021; 7(3): 50.
8. Abascal F, Irisarri I, & Zardoya R. Diversity and evolution of membrane intrinsic proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 2014; 1840(5): 1468-1481.
9. Bezerra-Neto JP, de Araújo FC, Ferreira-Neto JR, da Silva MD, Pandolfi V, Aburjaile F F et al. Plant aquaporins: diversity, evolution and biotechnological applications. *Current Protein and Peptide Science* 2019; 20(4): 368-395.
10. Reuscher S, Akiyama M, Mori C, Aoki K, Shibata D, & Shiratake K. Genome-wide identification and expression analysis of aquaporins in tomato. *PloS one* 2013; 8(11): e79052.
11. Ariani A, & Gepts P. Genome-wide identification and characterization of aquaporin gene family in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Molecular genetics and genomics* 2015; 290: 1771-1785.
12. Froger A, Thomas D, Delamarche C, & Tallur B. Prediction of functional residues in water channels and related proteins. *Protein Science* 1998; 7(6): 1458-1468.
13. Danielson JÅ, & Johanson U. Unexpected complexity of the aquaporin gene family in the moss *Physcomitrella patens*. *BMC Plant Biology* 2008; 8: 1-15.
14. Anderberg HI, Kjellbom P, & Johanson U. Annotation of *Selaginella moellendorffii* major intrinsic proteins and the evolution of the protein family in terrestrial plants. *Frontiers in plant science* 2012; 3: 33.
15. Li G, Santoni V, & Maurel C. Plant aquaporins: roles in plant physiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 2014; 1840(5): 1574-1582.
16. Uehlein N, Otto B, Hanson DT, Fischer M, McDowell N, & Kaldenhoff R. Function of *Nicotiana tabacum* aquaporins as chloroplast gas pores challenges the concept of membrane CO₂ permeability. *The Plant Cell* 2008; 20(3): 648-657.
17. Gomes D, Agasse A, Thiébaud P, Delrot S, Gerós H, & Chaumont F. Aquaporins are multifunctional water and solute transporters highly divergent in living organisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 2009; 1788(6): 1213-1228.
18. Park W, Scheffler BE, Bauer PJ, & Campbell BT. Identification of the family of aquaporin genes and their expression in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *BMC plant biology* 2010; 10(1): 1-17.
19. Fetter K, Van Wilder V, Moshelion M, & Chaumont F. Interactions between plasma membrane aquaporins modulate their water channel activity. *The Plant Cell* 2004; 16(1): 215-228.

20. Yaneff A, Vitali V, & Amodeo G. PIP1 aquaporins: Intrinsic water channels or PIP2 aquaporin modulators? *FEBS letters* 2015; 589(23): 3508-3515.
21. Kaldenhoff R, & Fischer M. Functional aquaporin diversity in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 2006; 1758(8): 1134-1141.
22. Maeshima M. Tonoplast transporters: organization and function. *Annual review of plant biology* 2001; 52(1): 469-497.
23. Quigley F, Rosenberg JM, Shachar-Hill Y, & Bohnert HJ. From genome to function: the Arabidopsis aquaporins. *Genome biology* 2001; 3(1): 1-17.
24. Ishikawa F, Suga S, Uemura T, Sato MH, & Maeshima M. Novel type aquaporin SIPs are mainly localized to the ER membrane and show cell-specific expression in Arabidopsis thaliana. *FEBS letters* 2005; 579(25): 5814-5820.
25. Venkatesh J, Yu JW, & Park SW. Genome-wide analysis and expression profiling of the Solanum tuberosum aquaporins. *Plant physiology and biochemistry* 2013; 73: 392-404.
26. Johanson U, Karlsson M, Johansson I, Gustavsson S, Sjovall S, Fraysse L et al. The complete set of genes encoding major intrinsic proteins in Arabidopsis provides a framework for a new nomenclature for major intrinsic proteins in plants. *Plant physiology* 2001; 126(4): 1358-1369.
27. Deshmukh RK, Vivancos J, Guérin V, Sonah H, Labbé C, Belzile F et al. Identification and functional characterization of silicon transporters in soybean using comparative genomics of major intrinsic proteins in Arabidopsis and rice. *Plant molecular biology* 2013; 83: 303-315.
28. Bienert GP, Bienert MD, Jahn TP, Boutry M, & Chaumont F. Solanaceae XIPs are plasma membrane aquaporins that facilitate the transport of many uncharged substrates. *The Plant Journal* 2011; 66(2): 306-317.
29. Maurel C, Boursiac Y, Luu DT, Santoni V, Shahzad Z, & Verdoucq L. Aquaporins in plants. *Physiological reviews* 2015; 95(4): 1321-1358.
30. Kapilan R, Vaziri M, & Zwiazek JJ. Regulation of aquaporins in plants under stress. *Biological research* 2018; 51(1): 1-11.
31. Sakurai J, Ahamed A, Murai M, Maeshima M, & Uemura M. Tissue and cell-specific localization of rice aquaporins and their water transport activities. *Plant and Cell Physiology* 2008; 49(1): 30-39.
32. Knipfer T, Besse M, Verdeil JL, & Fricke W. Aquaporin-facilitated water uptake in barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. *Journal of Experimental Botany* 2011; 62(12): 4115-4126.
33. Singh RK, Deshmukh R, Muthamilarasan M, Rani R, & Prasad M. Versatile roles of aquaporin in physiological processes and stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 2020; 149: 178-189.
34. Prado K, Boursiac Y, Tournaire-Roux C, Monneuse JM, Postaire O, Da Ines O et al. Regulation of Arabidopsis leaf hydraulics involves light-dependent phosphorylation of aquaporins in veins. *The Plant Cell* 2013; 25(3): 1029-1039.
35. Verdoucq L, Rodrigues O, Martinière A, Luu DT, & Maurel C. Plant aquaporins on the move: reversible phosphorylation, lateral motion and cycling. *Current Opinion in Plant Biology* 2014; 22: 101-107.
36. Grondin A, Rodrigues O, Verdoucq L, Merlot S, Leonhardt N, & Maurel C. Aquaporins contribute to ABA-triggered stomatal closure through OST1-mediated phosphorylation. *The Plant Cell* 2015; 27(7): 1945-1954.
37. Ahmed S, Kouser S, Asgher M, & Gandhi SG. Plant aquaporins: A frontward to make crop plants drought resistant. *Physiologia Plantarum* 2021; 172(2): 1089-1105.
38. Zhu C, Schraut D, Hartung W, & Schäffner AR. Differential responses of maize MIP genes to salt stress and ABA. *Journal of Experimental Botany* 2005; 56(421): 2971-2981.
39. Bae EK, Lee H, Lee JS, & Noh EW. Drought, salt and wounding stress induce the expression of the plasma membrane intrinsic protein 1 gene in poplar (*Populus alba* × *P. tremula* var. *glandulosa*). *Gene* 2011; 483(1-2): 43-48.
40. Sánchez-Romera Beatriz, Ruiz-Lozano JM, Li G, Luu DT, Martínez-Ballesta MDC, Carvajal, M et al. Enhancement of root hydraulic conductivity by methyl jasmonate and the role of calcium and abscisic acid in this process. *Plant, cell & environment* 2014; 37(4): 995-1008.
41. Li J, Ban L, Wen H, Wang Z, Dzyubenko N, Chapurin V et al. An aquaporin protein is associated with drought stress tolerance. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2015; 459(2): 208-213.
42. Azeem F, Bilal A, Rana MA, Muhammad AA, Habibullah N, Sabir H et al. Drought affects aquaporins gene expression in important pulse legume chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Pakistan Journal of Botany* 2019; 51(1): 81-88.
43. Hussain A, Tanveer R, Mustafa G, Farooq M, Amin I, & Mansoor S. Comparative phylogenetic analysis of aquaporins provides insight into the gene family expansion and evolution in plants and their role in drought tolerant and susceptible chickpea cultivars. *Genomics* 2020; 112(1): 263-275.

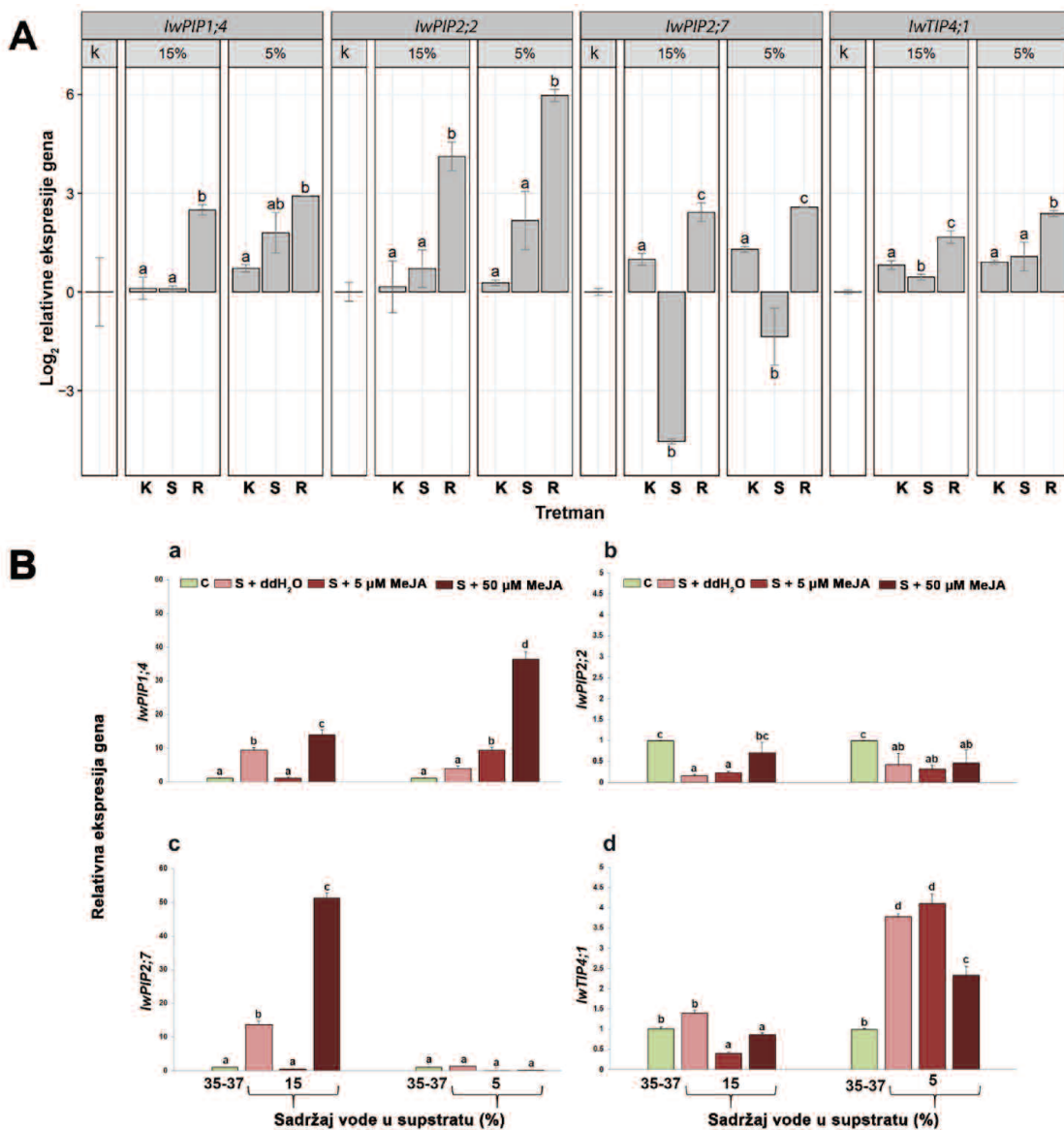
44. Šurbanovski N, Sargent DJ, Else MA, Simpson DW, Zhang H, & Grant OM. Expression of *Fragaria vesca* PIP aquaporins in response to drought stress: PIP down-regulation correlates with the decline in substrate moisture content. *PLoS one* 2013; 8(9): e74945.
45. Merlaen B, De Keyser E, Ding L, Leroux O, Chaumont F, & Van Labeke MC. Physiological responses and aquaporin expression upon drought and osmotic stress in a conservative vs prodigal *Fragaria x ananassa* cultivar. *Plant Physiology and Biochemistry* 2019; 145: 95-106.
46. Grondin A, Mauleon R, Vadez V, & Henry A. Root aquaporins contribute to whole plant water fluxes under drought stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant, Cell & Environment* 2016; 39(2): 347-365.
47. Hasan SA, Rabei SH, Nada RM, & Abogadallah GM. Water use efficiency in the drought-stressed sorghum and maize in relation to expression of aquaporin genes. *Biologia plantarum* 2017; 61: 127-137.
48. Liu C, Li C, Liang D, Ma F, Wang S, Wang P et al. Aquaporin expression in response to water-deficit stress in two *Malus* species: relationship with physiological status and drought tolerance. *Plant Growth Regulation* 2013; 70: 187-197.
49. Miniussi M, Del Terra L, Savi T, Pallavicini A, & Nardini A. Aquaporins in *Coffea arabica* L.: identification, expression, and impacts on plant water relations and hydraulics. *Plant physiology and biochemistry* 2015; 95: 92-102.
50. Nada RM, & Abogadallah GM. Aquaporins are major determinants of water use efficiency of rice plants in the field. *Plant Science* 2014; 227: 165-180.
51. Paudel I, Gerbi H, Zisovich A, Sapir G, Ben-Dor S, Brumfeld V, & Klein T. Drought tolerance mechanisms and aquaporin expression of wild vs. cultivated pear tree species in the field. *Environmental and Experimental Botany* 2019; 167: 103832.
52. Zhang S, Feng M, Chen W, Zhou X, Lu J, Wang Y et al. In rose, transcription factor PTM balances growth and drought survival via PIP2; 1 aquaporin. *Nature Plants* 2019; 5(3): 290-299.
53. Wei Q, Ma Q, Ma Z, Zhou G, Feng F, Le S et al. Genome-wide identification and characterization of sweet orange (*Citrus sinensis*) aquaporin genes and their expression in two citrus cultivars differing in drought tolerance. *Tree Genetics & Genomes* 2019; 15: 1-13.
54. Antičić D, Milošević S, Cingel A, Lojić M, Trifunović-Momčilov M, Petrić M et al. Effects of exogenous salicylic acid on *Impatiens walleriana* L. grown in vitro under polyethylene glycol-imposed drought. *South African Journal of Botany* 2016; 105: 226-233.
55. Antičić DD, Subotić AR, Dragičević MB, Pantelić D, Milošević SM, Simonović et al. Effects of exogenous salicylic acid on drought response and characterization of dehydrins in *Impatiens walleriana*. *Plants* 2020; 9(11): 1589.
56. Đurić M, Subotić A, Prokić L, Trifunović-Momčilov M, Cingel A, Vujičić M, & Milošević S. Morpho-physiological and molecular evaluation of drought and recovery in *impatiens walleriana* grown ex vitro. *Plants* 2020; 9(11): 1559.
57. Đurić MJ, Subotić AR, Prokić LT, Trifunović-Momčilov MM, Cingel AD, Dragičević MB et al. Molecular characterization and expression of four aquaporin genes in *Impatiens walleriana* during drought stress and recovery. *Plants* 2021; 10(1): 154.
58. Đurić M, Subotić A, Trifunović-Momčilov M, & Milošević S. Improvement of water deficit stress tolerance of *Impatiens walleriana* shoots grown in vitro by methyl jasmonate. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 2022a; 1-15.
59. Đurić M, Subotić A, Prokić L, Trifunović-Momčilov M, & Milošević S. Alterations in Physiological, Biochemical, and Molecular Responses of *Impatiens walleriana* to Drought by Methyl Jasmonate Foliar Application. *Genes* 2023; 14(5): 1072.
60. Đurić Marija. (2022b). Uticaj dehidracije i rehidracije na fiziološki odgovor i ekspresiju gena za akvaporine i metabolizam apscisinske kiseline kod *Impatiens walleriana*. Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet, Beograd, 1-186. Doktorska disertacija.
61. Xu Y, Hu W, Liu J, Zhang J, Jia C, Miao H et al. A banana aquaporin gene, MaPIP1; 1, is involved in tolerance to drought and salt stresses. *BMC Plant Biology* 2014; 14: 1-14.
62. Zhuang L, Liu M, Yuan X, Yang Z, & Huang, B. Physiological effects of aquaporin in regulating drought tolerance through overexpressing of *Festuca arundinacea* aquaporin gene FaPIP2; 1. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 2015; 140(5): 404-412.
63. Wang L, Li Q, Lei Q, Feng C, Gao Y, Zheng X et al. MzPIP2; 1: an aquaporin involved in radial water movement in both water uptake and transportation, altered the drought and salt tolerance of transgenic *Arabidopsis*. *PLoS One* 2015; 10(11): e0142446.
64. Wang L, Liu Y, Feng S, Yang J, Li D, & Zhang J. Roles of plasmalemma aquaporin gene StPIP1 in enhancing drought tolerance in potato. *Frontiers in Plant Science* 2017; 8: 616.



Slika 1. Struktura akvaporina. **A)** Šematski prikaz strukture akvaporina sa 6 transmembranskih domena (H1-H6, H - *helix*) ujedinijenih pomoću 5 petlji (LA-LE, L - *loops*), kao i NH₂ and COOH terminalnim krajevima u intracelularnom prostoru. Petlje LB i LE nose NPA motive koji formiraju kanale u membrani. **B)** 3D struktura pojedinačnih monomera (levo) i tetramera na osnovu kristalne strukture akvaporina SoPIP2-1 iz spanaća. Crnom bojom obeleženi su NPA motivi. Preuzeto i modificovano prema Bezerra-Neto i sar. [9].



Slika 2. Rezultati bioinformatičkih analiza strukture akvaporina *I. walleriana*. **A)** Transmembranski regioni (TM) akvaporina IwPIP1;4, IwPIP2;2, IwPIP2;7 i IwTIP4;1; **B)** 3D izgled kanala za vodu IwPIP1;4, IwPIP2;2, IwPIP2;7 i IwTIP4;1 u membrani; **C)** 3D modeli strukture holoproteina IwPIP1;4, IwPIP2;2, IwPIP2;7 i IwTIP4;1. Preuzeto i modifikovano prema Đurić et al. [57, 60].



Slika 3. A) Uticaj suše (15 i 5% sadržaja vode u supstratu) i rehidracije na ekspresiju gena za akvaporine *I. walleriana* (*lwPIP1;4*, *lwPIP2;2*, *lwPIP2;7* i *lwTIP4;1*). K – kontrola, S – suša, R – rehidracija; Preuzeto i modificirano prema Đurić i sar. [57, 60]. **B)** Uticaj folijarne primene metil jasmonata (MeJA) u koncentracijama 5 i 50 µM na ekspresiju gena za akvaporine *I. walleriana* a) *lwPIP1;4*, b) *lwPIP2;2*, c) *lwPIP2;7* i d) *lwTIP4;1*, pri 15 i 5% sadržaja vode u supstratu; Preuzeto i modificirano prema Đurić i sar. [59].



“Trendovi u molekularnoj biologiji 3”
su podržani od
**Ministarstva nauke, tehnološkog
razvoja i inovacija Republike Srbije**

IMPRESUM

Trendovi u molekularnoj biologiji, 2023.

Izdavač

**Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,
Univerzitet u Beogradu**

Urednik

Dr **Sonja Pavlović**, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu

Uređivački odbor

Dr **Ivana Strahinić**, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu

Prof. dr **Ivana Novaković**, redovni profesor,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr **Duška Savić Pavićević**, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Ana Đorđević**, naučni savetnik,
Univerzitet u Beogradu Institut za biološka istraživanja
„Siniša Stanković“

Recenzenti

Dr **Svetlana Radović**, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Vesna Škodrić Trifunović**, redovni profesor,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Gordana Nikčević**, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu

Štampa

Curent Print, Beograd

Periodičnost izlaženja publikacije

Godišnje

Tiraž

100 primeraka

t tmb

Trendovi u molekularnoj biologiji
Trends in Molecular Biology

Autori

Aleksandra Uskoković.....	138
Ana Djordjevic	151
Anastasija Ninković	38
Biljana Božić Nedeljković	245
Bojan Božić.....	245
Bojana Stevanović	90
Danijela Paunović.....	269
Dunja Drakulić	184
Dužanka Savić-Pavićević.....	38
Goran Brajušković.....	8
Ivana Kolić	168
Jadranka Miletić Vukajlović.....	184
Jelena Arambašić Jovanović	138
Jelena M. Aleksić.....	18
Jovan Pešović	38
Jovana Komazec.....	78
Jovana Kuveljić	122
Lana Radenković	38
Ljiljana Stojković	168
Ljupka Gligorovska	151
Luka Velimirov	38
Maja Bubić.....	106
Maja Stojiljković.....	78
Maja Živković	106
Marija Đorđević	138
Marija Đurić	256
Marija Dušanović Pjević	205
Marija Kosić.....	218
Marko Panić.....	38
Melita Vidaković.....	138
Milena Stevanović.....	18
Milka Grk.....	232
Miloš Brkušanin.....	38
Mirjana Mihailović	138
Nataša Kovačević Grujičić	18
Nemanja Garai.....	38
Nemanja Radovanović	38
Nevena Grdović.....	138
Nina Japundžić-Žigon	90
Nina Žigon.....	218
Slobodan Davidović.....	18
Svetlana Dinić	138
Tamara Djurić	122
Tanja Lunić	245
Teodora Karan-Đurašević	58
Zorica Nešić	218

CIP - Каталогизacija y publikaciji
Народна библиотека Србије, Београд

577.2

TRENDVI u molekularnoj biologiji = Trends in
Molecular Biology. - 2021, br. 1 (sep.)- . - Beograd :
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,
2021- (Beograd : Curent Print). - 28 cm

Godišnje. - Tekst na srp. i engl. jeziku.
ISSN 2787-2947 = Trendovi u molekularnoj biologiji
COBISS.SR-ID 45105929