

PROTEÍNY CYTOPLAZMATICKEJ MEMBRÁNY ZAHRNUTÉ V REZISTENCII BUNIEK KVASINIEK VOČI CHEMOTERAPEUTIKÁM

KATARÍNA BALKOVÁ a YVETTA GBELSKÁ

Katedra mikrobiológie a virológie, člen Výskumno-vzdelávacieho centra excelentnosti APVV „Biomembrány 2008“, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Mlynská dolina B-2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika

balkovak@fns.uniba.sk, gbelska@fns.uniba.sk

Došlo 22.12.08, prepracované 26.3.09, prijaté 2.4.09.

Kľúčové slová: mnohonásobná rezistencia, kvasinky, transportné proteíny,

Obsah

1. Úvod
2. Štruktúra biologickej membrány vo vzťahu k jej funkcii
3. Chemické zloženie membrán ovplyvňuje citlivosť buniek voči chemoterapeutikám
 - 3.1. Vylučovacie pumpy typu ABC
 - 3.2. Porovnávací analýza génov špecifikujúcich ABC transportéry kvasiniek
 - 3.3. Vylučovacie pumpy typu MFS
4. Interakcia substrátu s transportným proteínom
5. Homeostáza sfingolipidov je koregulovaná génami MDR
6. Záver

1. Úvod

Neustále sa zvyšujúci počet patogénnych mikroorganizmov, ktoré sú rezistentné voči mnohým antibiotikám, je hlavným problémom pri liečbe pacientov s nemocničnými alebo získanými infekciami spôsobenými baktériami, kvasinkami, hubami a parazitickými mikroorganizmami. Terapiu mnohých patologických stavov (vrátane rakoviny a fungálnych infekcií) komplikuje rozvoj tzv. mnohonásobnej rezistencie (multidrug resistance – MDR) v cieľových bunkách, ktorá sa prejavuje ich odolnosťou voči rôznym, štruktúrne odlišným chemoterapeutikám¹. MDR je najčastejšie dôsledkom vylučovania cytotoxických zlúčenín z buniek, ktoré zabezpečujú efluxné pumpy asociované s plazmatickou membránou. Biologické membrány sa skladajú z lipidov, proteínov a sacharidov. Lipidovú časť tvoria fosfolipidy, sfingolipidy a steroly. Väčšina integrálnych proteínov membrán obsahuje jednu alebo viac transmembránových domén, ktoré sú schopné interak-

cie s príľahlými lipidmi a proteínmi. Permeabilita membrán je determinovaná zložením prítomných lipidov ako aj proteínov. Vo všeobecnosti, lipidovou dvojvrstvou prestupujú nepochopiteľne zlučujú difúziou, zatiaľ čo proteíny tvoria v membránach kanály resp. transportéry pre ióny a hydrofilné substancie.

Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* sú vhodným biologickým modelom pre štúdium štruktúry a funkcie biologických membrán, vzhľadom na skutočnosť, že mnohé komponenty membrán sú evolučne konzervované. S ohľadom na konzervovanosť a dostupnosť sofistikovaných genetických, cytologických a biochemických prístupov sa stali fakultatívne anaeróbne kvasinky *S. cerevisiae* základným modelovým organizmom pre štúdium kľúčových procesov biológie eukaryotickej bunky. Popri *S. cerevisiae* sa venuje čoraz väčšia pozornosť aj iným druhom kvasiniek, ktoré sú významnými humánnymi patogénmi, prípadne druhmi využívanými v potravinárskych technológiách.

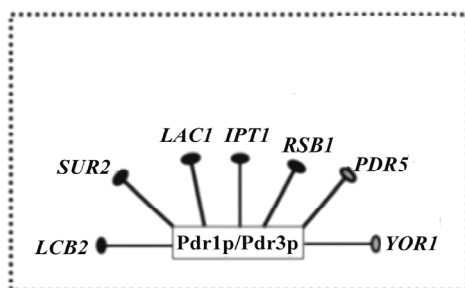
2. Štruktúra biologickej membrány vo vzťahu k jej funkcii

Biologické membrány, esenciálne pre existenciu živého systému, vznikli v evolúcii veľmi skoro, za účelom zabezpečiť oddelenie živého systému od okolitého prostredia. Základnými štruktúrnymi komponentami biologických membrán sú bielkoviny a lipidy. Lipidy determinujú fyzikálne vlastnosti membrán a bielkoviny sú primárne zodpovedné za funkčné vlastnosti biologických membrán. Rozloženie lipidov vo vnútornej a vonkajšej vrstve membrány je asymetrické. Biologické membrány predstavujú selektívnu bariéru pre hydrofilné molekuly, ktoré pre vstup do cytoplazmy vyžadujú špeciálne transportné systémy. Hydrofóbne a amfifilné molekuly môžu ľahko prestupovať fosfolipidovou dvojvrstvou membrány a mnohé z nich sú škodlivé pre metabolické procesy bunky. Všetky bunky sú vybavené špecializovanými systémami, ktoré sú schopné detegovať, koncentrovať a exportovať cytotoxické zlúčeniny, ktoré sa difúziou dostali do vnútra buniek^{2,3}. Laterálna heterogenita lipidického zloženia membrány, jej hydrofobicita a hrúbka môže ovplyvňovať aktivitu, orientáciu, stabilitu a agregáciu membránových proteínov. Aktivity membránových proteínov je do značnej miery závislá na lipidickom zložení membrány.

Dôležitými štruktúrnymi zložkami eukaryotických membrán sú sfingolipidy, ktoré zabezpečujú a udržiavajú rigiditu membrány. Popri svojej štruktúrnej úlohe sa sfingolipidy, spolu so svojimi prekurzormi, zúčastňujú regulácie niektorých metabolických aktivít eukaryotickej bunky. Za tzv. bioaktívne lipidy, ktoré sa tvoria počas biosyntézy sfingolipidov, sa považujú dihydrosfingozín a sfingozín (fytosfingozín u kvasinky *S. cerevisiae*), označované ako

LCB_s (long chain bases). LCB_s sú substrátmi pre enzým ceramid syntázu, ktorá zabezpečuje biosyntézu ceramidov. V eukaryotických bunkách existujú LCB_s vo fosforylovanej a nefosforylovanej forme, ktoré sú vo vzájomnej rovnováhe. Lipidom plazmatickej membrány sa popri štruktúrnej funkcii pripisuje tiež úloha v prenose signálov z vonkajšieho prostredia do vnútra bunky. Ukazuje sa, že mnohé funkcie bunkových membrán sú úzko spojené s rôznymi špecializovanými doménami, ktoré sú bohaté na steroly a sfingolipidy. Oblasti membrány rezistentné voči detergentom s vyšším podielom ergosterolu, sfingolipidov a špecifických membránových proteínov sa nazývajú rafty. Viaceré experimentálne štúdie naznačujú, že fluktuácie v zložení membránových lipidov majú vplyv na lokalizáciu a správnu funkciu efluxných púmp zahrnutých vo fenoméne MDR. Ukázalo sa, že efluxné pumpy z ABC rodiny (ATP binding cassette) sú obzvlášť citlivé na narušenie rovnováhy komponent lipidových raftov membrány². Predpokladá sa, že lipidové rafty prispievajú napr. k morfogénne hýf a pravdepodobne aj k virulencii patogénnej kvasinky *Candida albicans*². Pokles množstva ergosterolu a sfingolipidov v plazmatickej membráne kvasinky *C. albicans* vedie k oslabeniu funkcie vylučovacej pumpy Cdr1p z ABC rodiny kódovanej génom *CDR1*^{2,4}. Uvedené fakty naznačujú, že hlavný ABC transportný proteín kvasinky *C. albicans* Cdr1p sa pravdepodobne nachádza v špecifických mikrodoménach membrány – raftoch a akékoľvek porušenie tejto štruktúry ovplyvňuje lokalizáciu a funkčný stav transportného proteínu².

V kvasinkách *S. cerevisiae* sú efluxné pumpy ABC rodiny súčasťou regulačnej siete tzv. MDR, v ktorej sa ako hlavné regulátory expzie špecifických transportných proteínov uplatňujú proteíny so štruktúrnym motívom zinkového prstu Pdr1p/Pdr3p. Oba transkripčné faktory sa viažu ku konsenzus sekvenciám v promótoroch regulovaných génov tzv. PDRE (pleiotropic drug resistance element)⁵. Na druhej strane, prítomnosť PDRE elementov, v promótoroch viacerých génov zúčastňujúcich sa biosyn-



Obr. 1. Gény biosynthetickej dráhy sfingolipidov a MDR kontrolované Pdr1p/Pdr3p v *S. cerevisiae*. LCB2 – serín palmitoyl-transferáza; SUR2 – sfingamín C4-hydroxyláza; LAC1 ceramid syntáza; IPT1 – inozitol fosfotransferáza; PDR5, YOR1, RSB1 – ABC transportné proteíny. Upravené podľa Panwar a spol., 2008, cit.⁴

tézy sfingolipidov, naznačuje úzke prepojenie medzi MDR sieťou a biosyntézou sfingolipidov v bunkách *S. cerevisiae*⁵ (obr. 1). Pod kontrolou regulačnej siete MDR, v kvasinkách *S. cerevisiae* je produkt génu *IPT1* (kóduje inozitol-fosfotransferázu), ktorý je zahrnutý v konečnom kroku biosyntézy sfingolipidov. Strata génu *IPT1* vedie k zmene citlivosti *ipt1Δ* mutantov voči liečivám, čo naznačuje, že normálny obsah lipidov v membráne je potrebný pre zachovanie tolerance buniek kvasiniek voči cytotoxickým zlúčeninám⁵.

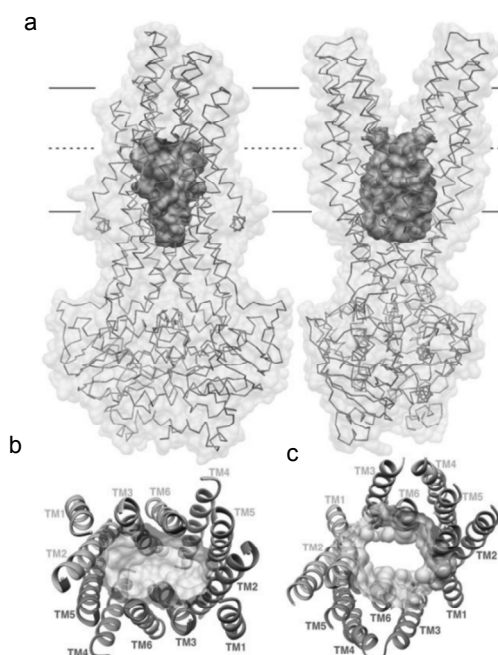
Genetickú interakciu medzi sieťou MDR a dráhou biosyntézy sfingolipidov v kvasinkách *S. cerevisiae* dokumentuje tiež fakt, že gén *RSB1*, kódujúci membránový transportný proteín, podlieha regulácii prostredníctvom proteínu Pdr1p. Produkt génu *RSB1* – Rsb1p vylučuje prekursor ceramidov označované ako LCB, ktorých akumulácia môže byť pre bunku toxická⁶. Prepojenie medzi fenoménom MDR a homeostázou membránových lipidov naznačuje, že dosiaľ nevyjasnená fyziologická úloha MDR siete by mohla spočívať v zabezpečovaní/regulácii štruktúry a funkcie plazmatickej membrány na úrovni zloženia lipidov a membránových transportných proteínov.

3. Transportné proteíny membrány zahrnuté v mnohonásobnej rezistencii

3.1. Vylučovacie pumpy typu ABC

Evolučne konzervované transportné proteíny z rodiny ABC zabezpečujú transport rôznych substrátov cez biologickú membránu. Zohrávajú esenciálnu úlohu v ochrane buniek pred toxickými zlúčeninami/metabolitmi^{3,7} (obr. 2). ABC transportné proteíny kvasiniek *S. cerevisiae* sú zahrnuté v rôznych funkciách: v maturácii cytosolických Fe/S proteínov, v transporte feromónov, v biogenéze peroxizómov, v odpovedi buniek na stres, v homeostáze lipidickej dvojvrstvy plazmatickej membrány. Proteíny typu ABC uskutočňujú prostredníctvom hydrolýzy ATP transport veľkého množstva štruktúrne a funkčne nepříbuzných látok vrátane liečiv, z buniek. Rodiny génov zahrnuté v kontrole MDR *S. cerevisiae* sa našli u všetkých dosiaľ študovaných druhov hemiascomycét, čo dokumentuje význam.

ABC proteíny sa skladajú z jednej alebo dvoch domén viažúcich nukleotid (NBD nucleotide binding domain), jednej alebo dvoch transmembránových domén (TMD transmembrane domain) (obr. 3a). Obsahujú približne 200 konzervovaných aminokyselinových zvyškov nachádzajúcich sa v motívoch označovaných Walker A, Walker B a tzv. ABC signatúrou s motívom SGG (Q). Transportné proteíny ABC rodiny sú energizované hydrolýzou ATP, molekulárny mechanizmus transportu však nie je zatiaľ objasnený.



Obr. 2. Štruktúra bakteriálneho ABC transportného proteínu *Staphylococcus aureus*; topológia proteínu v membráne (a), rozloženie TMD vo vnútornej (b) a vonkajšej (c) vrstve membrány. Prevzaté z Dawson and Locher, 2006, cit.²²

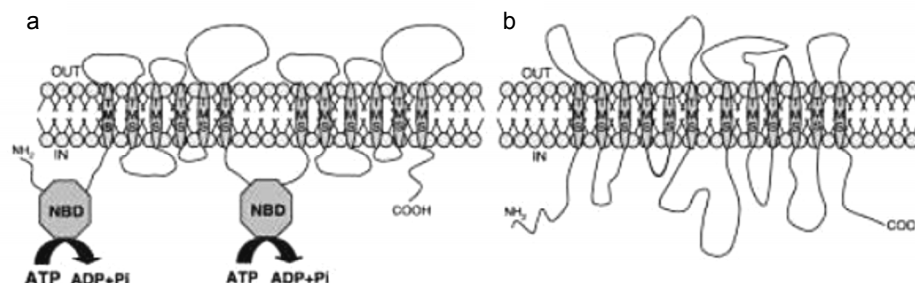
3.2. Porovnávací analýza génov špecifikujúcich ABC transportéry kvasiniek

Na základe sekvenčnej podobnosti boli gény špecifikujúce ABC transportné proteíny kvasiniek *S. cerevisiae* rozdelené do šiestich rodín⁸. Z hľadiska štruktúry, funkcie a fylogényzy bola intenzívne študovaná hlavná vylučovacia pumpa – Pdr5p *S. cerevisiae*, predovšetkým pre podobnosť s P-glykoproteínom cicavčích buniek. P-glykoproteín je asociovaný s rezistenciou rakovinových buniek voči antionkogénym chemoterapeutikám. Jeho funkcia, po-

dobne ako funkcia proteínu Pdr5p kvasiniek *S. cerevisiae*, sa študovala cielenou mutagenézou za účelom identifikovať zvyšky aminokyselín nevyhnutné pre transportnú aktivitu proteínu⁹. S cieľom determinovať oblasť proteínu významnú pre detekciu substrátu sa sledovala priama interakcia proteínu s rôznymi substrátmi, naviazanie substrátu na transportný proteín a jeho export z bunky. Z hľadiska substrátu sa sledoval vplyv dĺžky uhlíkového reťazca, iónového zloženia, hydrofobicity a veľkosti molekuly substrátu na transportnú aktivitu proteínu³.

Podarilo sa identifikovať niekoľko zvyškov aminokyselín, ktorých zámena vedie k zmene substrátovej špecificity proteínu Pdr5p, zmene citlivosti proteínu Pdr5p voči inhibítorom, prípadne k zmene lokalizácie proteínu¹⁰. Ukázalo sa, že selekcia substrátu je determinovaná nielen štruktúrou a aminokyselinovým zložením TMD, ale aj asymetrickými NBD, t.j. miestami, kam sa viaže ATP. Pre správnu funkciu transportného proteínu je rozhodujúca špecifická interakcia medzi NBD a TMD⁹.

Gén *KIPDR5*, špecifikujúci Pdr5p biotechnologicky významnej kvasinky *Kluyveromyces lactis* zdieľa 72% identitu s génom kódujúcim Pdr5p kvasinky *S. cerevisiae* a 53,5% identitu s génom kódujúcim CgCdr1p patogénnej kvasinky *C. glabrata*. Všetky tri homologické ABC transportné proteíny sa vyznačujú rovnakou topologickou organizáciou domén (NBD-TM)₂ (obr. 3a). Proteín K/Pdr5p má 1525 aminokyselín, je o 49 aminokyselín dlhší ako homologický proteín ScPdr5p a o 61 aminokyselín dlhší ako proteín CgCdr1p. Všetky proteíny sú lokalizované v plazmatickej membráne a majú 12 (K/Pdr5p, CgCdr1p) resp. 14 (ScPdr5p) transmembránových domén. Všetky hydrofóbne TMD sú spojené krátkou hydrofilnou oblasťou⁹. N-terminálny koniec všetkých troch ABC proteínov (K/Pdr5p, ScPdr5p, CgCdr1p) obsahuje ATP-viažuce motívy Walker A, Walker B a ABC signatúru. C-terminálny koniec proteínov obsahuje konzervovanú ABC signatúru a motív Walker A, avšak motív Walker B je degenerovaný (obr. 4). V aminokyselinovej sekvencii K/Pdr5p sa nachádzajú viaceré N-glykozylačné a fosforylačné miesta pre postrančné modifikácie proteínu. Funkčná podobnosť medzi ABC transportérmi kvasiniek a ľudí je dokumentovaná mnohými experimentálnymi



Obr. 3. Topológia ABC transportného proteínu (a) a MFS transportného proteínu typu (b). Prevzaté z Prasad a Kapoor, 2005, cit.²³

Pdr5p	1030	L	L	V	F	L	D	E	P	T	S	G	L	D	S	Q	1044
Pdr15p	1084	L	L	V	F	L	D	E	P	T	S	G	L	D	S	Q	1098
Pdr10p	1045	L	L	V	F	L	D	E	P	T	S	G	L	D	S	Q	1059
Snq2p	1013	L	L	L	F	L	D	E	P	T	S	G	L	D	S	Q	1027
Pdr12p	1003	L	L	L	F	L	D	E	P	T	S	G	L	D	S	Q	1017
Pdr11p	897	L	L	L	F	L	D	E	P	T	S	G	L	D	A	E	911
Ca Cdr1p	1055	L	L	L	F	L	D	E	P	T	S	G	L	D	S	Q	1069
Kl Pdr5p	1021	L	L	L	F	L	D	E	P	T	S	G	L	D	S	Q	1035
Os Pdr5p	1025	I	-	I	F	M	D	E	P	T	S	G	L	D	A	R	1038
Ycf1p	1430	I	L	V	-	L	D	E	A	T	A	A	V	D	V	E	1443
Yor1p	1387	I	L	I	-	L	D	E	A	T	S	S	V	D	Y	E	1400
Ste1p	1210	I	L	I	-	L	D	E	C	T	S	A	L	D	S	V	1223
Ta Mdr1p	1180	I	L	L	-	L	D	E	A	T	S	A	L	D	A	E	1193
Cae1 Mdr1p	1238	I	L	L	-	L	D	E	A	T	S	A	L	D	T	E	1251
Mm Mdr1p	1194	I	L	L	-	L	D	E	A	T	S	A	L	D	T	E	1207
Hs Mdr1p	1391	I	L	V	-	L	D	E	A	T	A	A	V	D	L	E	1404

□ Motív WalkerB □ Substitúcia zvyškov aminokyslín

Obr. 4. Porovnávací analýza nukleotid viažúcej domény ABC transportných proteínov. Orámovaná časť predstavuje evolučne konzervovaný WalkerB motív. Hrubo zvýraznené aminokyseliny reprezentujú povolené substitúcie v nukleotid viažúcej oblasti proteínu. Prevzaté z Tutulan-Cunita a spol., 2005, cit.³

mi štúdiami dokazujúcimi, napr. že P-glykoproteín je schopný expresie aj v heterologickom systéme *S. cerevisiae* a udeľuje bunkám kvasiniek rezistenciu voči chemoterapeutikám¹¹.

3.3. Vylučovacie pumpy typu MFS

MFS (major facilitator superfamily) transportné proteíny boli pôvodne definované ako superrodina permeáz, skladajúcich sa z 2 štrukturálnych jednotiek – šiestich transmembránových α -helikálnych segmentov spojených cytoplazmatickou slučkou¹². Aj niektoré MFS transportné proteíny mikroorganizmov (MFS-MDR) slúžia ako efluxné pumpy vylučujúce toxické zlúčeniny von z buniek. Zdrojom energie pre vylučovanie substrátov je v prípade MFS-MDR proteínov elektrochemický gradient protónov na membráne. MFS proteíny obsahujú cca 500–600 aminokyselín, nachádzajú sa v prokaryotických aj v eukaryotických bunkách. Spravidla zabezpečujú uniport, symport alebo antiport rôznych zlúčenín medzi bunkou a jej okolím¹³. Jednoduchý MFS-MDR proteín kvasiniek pozostáva z 10 až 14 transmembránových domén. V genóme kvasinky *S. cerevisiae* sa identifikovalo 28 MFS-MDR transportných proteínov, ktoré boli na základe predpokladanej štruktúry rozdelené do troch odlišných skupín: skupina I obsahuje transportéry s 12 transmembránovými doménami (obr. 3b), zatiaľ čo skupina II a III zahŕňa transportéry obsahujúce 14 transmembránových domén¹⁴.

4. Interakcia substrátu s transportným proteínom

Kľúčovou vlastnosťou transportérov zahrnutých vo fenoméne mnohonásobnej rezistencie je ich schopnosť rozpoznávať veľké množstvo štruktúrne odlišných chemických zlúčenín. Predpokladá sa, že efluxná pumpa, proteín Pdr5p kvasinky *S. cerevisiae* obsahuje prinajmenšom 3 rôzne väzobné miesta pre substrát, rozpoznávajúce jeho odlišné chemické determinanty⁷. Naviac, všetky hydrofóbne substráty transportného proteínu Pdr5p musia mať požadovanú veľkosť⁷. Zdá sa, že veľkosť molekuly a/alebo vzdialenosť medzi funkčnými skupinami substrátu sú rozhodujúce pre to, aby príslušná zlúčenina mohla byť substrátom Pdr5p.

Niekoľko hypotéz a modelov, ktoré vysvetľujú spôsob väzby substrátov a spôsob ich vylučovania ABC transportnými proteínmi, pochádza zo štúdií bakteriálnych modelových systémov^{15–18}. Polyšpecifitu, najtypickejšiu vlastnosť efluxnej pumpy, v súčasnosti najlepšie vysvetľuje model, podľa ktorého TMD transportéra vytvoria vnútri membrány kanál, ktorým substrát vystupuje z bunky. Vnútri kanálu sa uplatňujú van der Waalsove alebo elektrostatické interakcie medzi translokovaným substrátom a aminokyselinovými zvyškami transportného proteínu. Väzba ATP vyvolá konformačnú zmenu transportného proteínu, čím sa zabezpečí translokácia substrátu. Hydrolyzou ATP sa vracia konformácia proteínu do pôvodného stavu. Amfifilita a hydrofóbnosť transportovanej molekuly nie sú podľa uvedeného modelu pre jej transport rozhodujúce³. Otázkou ostáva, čo spôsobuje tak širokú substrátovú špecifitu transportéra. Štúdie využívajúce fotoafinitné značenie spolu s genetickými analýzami u cicavcov ukázali, že v rozpoznávaní substrátov sa uplatňujú tak NBD, ako aj TMD proteínu. Identifikovalo sa niekoľko kritických aminokyselinových zvyškov v transportnom proteíne, ktoré sú rozhodujúce pre rozpoznanie substrátu¹⁹.

5. Homeostáza sfingolipidov je koregovaná génami MDR

Predpokladá sa, že niektoré ABC transportné proteíny zabezpečujú homeostázu membránových lipidov a zároveň reguláciu permeability membrány svojou účasťou na distribúcii fosfolipidov v membráne²⁰. Efluxné pumpy sa môžu tiež podieľať na odstraňovaní poškodených oxidovaných foriem lipidov z membrány. Sledovaním akumulácie fluorescentne značeného fosfatidyletanolamínu (PE) *in vivo* sa zistilo, že bunky kvasiniek bez Pdr5p mali zvýšené hladiny PE na vonkajšej strane plazmatickej membrány²¹.

6. Záver

Fenómén MDR je najpodrobnejšie preštudovaný u fakultatívne anaeróbných kvasiniek *S. cerevisiae*. U kvasiniek vzniká MDR najčastejšie ako dôsledok mutácií v génoch kódujúcich transkripčné regulátory, ktoré vedú k zvýšenej expresii transportných proteínov typu ABC (ATP binding cassette) alebo MFS (major facilitator superfamily) asociovaných s mnohonásobnou rezistenciou. Proteín Pdr5p je typickým príkladom ABC transportného proteínu schopného viazať a vylučovať veľké množstvo rozličných substrátov. Polyšpecifita transportného proteínu Pdr5p môže byť dôsledkom evolučného vývoja, počas ktorého sa počet zlúčenín, ktoré je schopný transportovať, postupne zvyšoval. Nepatrné modifikácie v štruktúre Pdr5p následkom mutácií viedli k získaniu schopnosti viazať a transportovať ďalšie substráty. Presný molekulárny mechanizmus rozpoznávania tak veľkého súboru substrátov zostáva zatiaľ neobjasnený a je predmetom intenzívneho experimentálneho štúdia.

Práca bola vypracovaná s podporou grantov VEGA 1/0078/08 a VVCE-0064-07.

Použité skratky

ABC	ATP binding cassette – kazeta viažúca ATP
LCB	long chain bases – bázy s dlhým uhlíkovodíkovým reťazcom (prekurzory biosyntézy sfingolipidov)
MFS	major facilitator superfamily – superrodina membránových transportných proteínov energizovaných elektrochemickým gradientom protónov na membráne
MDR	multidrug resistance – mnohonásobná rezistencia
NBD	nucleotide binding domain – nukleotid viažúca doména
PDRE	pleiotropic drug resistance element – element promótora špecifickej sekvencie, ku ktorému sa viažu transkripčné faktory Pdr1p/Pdr3p
TMD	transmembrane domain – transmembránová doména

LITERATÚRA

1. Moye-Rowley W. S.: Prog. Nucleic Acid Res. 73, 251 (2003).
2. Mukhopadhyay K., Prasad T., Saini P., Pucadyil T. J., Chattopadhyay A., Prasad R.: Antimicrob. Agents, Chemother. 48, 1778 (2004).
3. Tutulan-Cunita A. C., Mikoshi M., Mizunuma M., Hirata D., Miyakawa T.: Genes to Cells 10, 409 (2005).
4. Pasrija R., Prasad T., Prasad R.: Biochem. Soc. Trans. 33, 1219 (2005).
5. Hallstrom T. C., Lambert L., Schorling S., Balzi E., Goffeau A., Moye-Rowley W. S.: J. Biol. Chem. 276, 23674 (2001).

6. Kihara A., Igarashi Y.: J. Biol. Chem. 277, 30048 (2002).
7. Golin J., Ambudkar S. V., May L.: Biochim. Biophys. Res. Commun. 356, 1 (2007).
8. Decottignies A., Goffeau A.: Nat. Genet. 15, 137 (1997).
9. Sauna Z. E., Bohn S. S., Rutledge R., Dougherty M. P., Cronin S., May L., Xia D., Ambudkar S. V., Golin J.: J. Biol. Chem. 283, 35010 (2008).
10. Egner R., Rosenthal F. E., Kralli A., Sanglard D., Kuchler K.: Mol. Biol. Cell 9, 523 (1998).
11. Chen X. J., Bauer B. E., Kuchler K., Clark-Walker G. E.: J. Biol. Chem. 275, 14865 (2000).
12. Marger D. M., Saier M. H. Jr.: TIBS 18, 13 (1993).
13. Nellisen B., Wachter R. D., Goffeau A.: FEMS Microbiol. Rev. 21, 113 (1997).
14. Sa-Correia I. S., Tenreiro S.: J. Microbiol. 98, 215 (2002).
15. Borges-Wamsley M. I., Wamsley A. R.: Trends Microbiol. 9, 71 (2001).
16. Higgins C. F., Linton K. J.: Science 293, 1782 (2001).
17. van Veen H. W., Higgins C. F., Koning W. N.: Res. Microbiol. 152, 365 (2001).
18. Davidson A. L.: Science 296, 1038 (2002).
19. Kolaczowski M., van der Rest M., Cybularz-Kolaczowska A., Soumillion J. P., Konings W. N., Goffeau A.: J. Biol. Chem. 271, 31543 (1996).
20. Decottignies A., Grant A. M., Nichols J. W., de Wet H., McIntosh D. B., Goffeau A.: J. Biol. Chem. 273, 12612 (1998).
21. Kean L. S., Grant A. M., Angeletti C., Mahé Y., Kuchler K., Fuller R. S., Nichols J. W.: J. Cell Biol. 138, 255 (1997).
22. Dawson R. J., Locher K. P.: Nature 443, 180 (2006).
23. Prasad R., Kapoor K., v: Int. Rev. Cytol. (Kwang W. Jeon, ed.), 242, str. 215. Elsevier, Amsterdam 2005.
24. Panwar S. L., Pasrija R., Prasad R.: Biosci. Rep. 28, 217 (2008).

K. Balková and Y. Gbelská (Department of Microbiology and Virology, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic): **Plasma Membrane Proteins Involved in Cell Resistance to Chemotherapeutics**

The expression of drug efflux pumps located in cell membranes, especially in the plasma membrane, is induced by various hydrophobic compounds with overlapping specificity, leading to multidrug resistance (MDR) in the target cell. This fact is a serious obstacle in the treatment of various infections and cancer. MDR is the result of transcriptional upregulation of genes encoding proteins mediating the efflux of cytotoxic compounds from cells. Novel experimental data show that the physiological role of the MDR network is probably coordination of the synthesis of membrane proteins with the production of lipid components of membranes.