

Н О В І К Н И Г И

Л.А. Ломоватская, А.С. Романенко, Н.В. Филинова
АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К СТРЕССАМ
Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2010. – 88 с.

В монографии, написанной сотрудниками Сибирского института физиологии и биохимии растений (СИФИБР) Сибирского отделения РАН, обобщены результаты изучения аденилатциклязной сигнальной системы (АСС). Она является одной из восьми сигнальных систем, функционирующих у растений. АСС растений исследована недостаточно по сравнению с соответствующим сигнальным комплексом животных организмов и целостного представления о механизмах ее функционирования в растениях в настоящее время нет. Основная причина недостаточного внимания фитобиологов к изучению этой системы – крайне низкие концентрации у растений вторичного мессенджера АСС циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) по сравнению с животными клетками. Поэтому длительное время считали, что цАМФ отсутствует в растениях. Но внедрение методов газожидкостной хроматографии и масс-спектрометрии позволило установить его наличие в клетках разных видов растений.

Заметим, что физиологическая роль цАМФ у растений исследовалась в нескольких научных коллективах бывшего Союза ССР еще с конца 70-х годов прошлого столетия. Интересные результаты были получены в Казанском институте биохимии и биофизики, где и ныне изучается цАМФ-зависимое фосфорилирование белков у растений (И.А. Тарчевский, Ф.Г. Каримова и др.). Участие цАМФ в активации РНК-полимеразы II, регуляции клеточного деления, адаптации растений к низким температурам было показано сотрудниками Института физиологии растений и генетики НАН Украины (В.К. Яворская, Ф.Л. Калинин, И.В. Драговоз). В 1999 г. в киевском издательстве «Наукова думка» вышла монография В.К. Яворской и И.В. Драговоза «Физиологическая роль 3',5'-аденозинмонофосфата в растительной клетке», которая, по-видимому, была первым русскоязычным монографическим изданием по цАМФ растений.

Монография исследователей из СИФИБРа посвящена характеристике и функциям растительных аденилатцикляз (АЦ) – стартовых ферментов АСС. Результаты многолетних исследований авторов монографии существенно восполняют существовавшие до сих пор пробелы информации о функционировании АСС у растительных организмов, ее роли в реакции растений на абиотические и биотические стрессоры.

Монография включает введение, 11 глав и заключение. В главах 1-5 авторы обобщают литературные данные по АСС животных, микроорганизмов, растений и других объектов. В главе 1 цАМФ охарактеризован как вторичный посредник в регуляции генной экспрессии, широко распространенный почти во всех типах животных клеток, а также в бактериях и грибах. Дается характеристика различных мембранных АЦ у прокариот и эукариот на основе гомологии последовательностей внутри их каталитических доменов (глава 2).

Наибольшее внимание авторы уделяют характеристике АЦ, которые по своей локализации в клетке делятся на мембраносвязанные и растворимые (цитозольные) формы фермента. Дается биохимическая характеристика мембранной АЦ (мАЦ) из животных тканей, отмечается разнообразие изоформ мАЦ и значительная гетерогенность в распространении и биохимических свойствах различных изоформ АЦ. Рассматриваются механизмы регуляции активности мАЦ и растворимой АЦ (рАЦ) животных на основе каталитических свойств фермента (за счет модификации на уровне самой молекулы), участия G-белков, ионов кальция, кальмодулина, форсколина, пирофосфата и посттрансляционной модификации (фосфорилирование, гликозилирование, S-нитрозилирование). Отмечается, что одним из эффективных регуляторов активности рАЦ являются ионы бикарбоната, совместное действие которых с ионами Ca^{2+} оказывает значительный синергический эффект на активность фермента в животных клетках и, как показано исследованиями авторов монографии, также у растений.

В монографии обобщены немногочисленные данные о мАЦ и рАЦ растений. Авторы придерживаются мнения, что в растениях, по-видимому, функционирует АЦ сходная по строению с мАЦ животных. Это предположение основано на том, что многие регуляторы активности АЦ животных оказывают одинаковый эффект на АЦ растений. Приводятся сведения о существенном влиянии на активность АЦ растений факторов внешней среды как абиотической, так и биотической природы. Авторы подчеркивают, что остается открытым вопрос о координации функционирования мАЦ и рАЦ, так как не ясны промежуточные этапы передачи внутриклеточного сигнала к рАЦ и роль в этом процессе мАЦ.

Глава 3 посвящена обзору данных о рецепторах в АСС, интегрированных в плазматическую мембрану. Авторы выделяют три основных типа подобных рецепторов: сопряженные с G-белками; ассоциированные с ферментативной активностью и ионные каналы.

цАМФ-регулируемым ионным каналам посвящена глава 4, в которой отмечается, что в растениях существуют ионные каналы, открываемые циклическими нуклеотидами (cyclic nucleotide-gated channels – CNGCs). Физиологическая роль CNGCs в животных и растительных тканях до конца не ясна. Есть предположение, что общая функция этих каналов состоит в повышении уровня внутриклеточного Ca^{2+} . Более того, предполагается, что присутствующие в растениях нуклеотид-регулируемые Ca^{2+} -каналы могут выполнять функцию механизма, конвертирующего цАМФ-зависимые сигналы в кальциевые, тем самым обеспечивая обходной путь, не требующий участия нуклеотид-зависимой протеинкиназы. Заметим, что вопрос о присутствии таких протеинкиназ у растений остается дискуссионным, хотя, как отмечают авторы монографии в главе 5, у животных, низших эукариот и прокариот протеинкиназа А считается основным рецептором цАМФ.

Заканчивая анализ литературных данных, авторы делают заключение о том, что существующие данные по изучению АСС растений в целом, и АЦ, в частности, не дают ответа на многие вопросы, касающиеся физиологических, биохимических, молекулярных, генетических и других аспектов функционирования и регуляции этой сигнальной системы. В 6-11 главах авторами излагаются собственные экспериментальные данные, в значительной степени восполняющие пробелы знаний по этим вопросам.

Авторами изучены кинетические параметры тотальных мАЦ и рАЦ у разных по устойчивости сортов картофеля и их изменение при действии на растения возбудителя кольцевой гнили – *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) (глава 6). Найдены различия в кинетических параметрах ферментов (V_m , K_m) у восприимчивого и невосприимчивого к патогену сортов картофеля. На основании полученных результатов авторами сделан вывод, что под влиянием патогена активность мАЦ корней картофеля модулируется по изостерическому и аллостерическому типам. Причем у устойчивого сорта наблюдается положительная аллостерическая регуляция, у восприимчивого – отрицательная. Наблюдаемые различия в кинетических параметрах рАЦ у двух контрастных по устойчивости сортов картофеля позволили авторам заключить, что имеющиеся отличия в каталитических доменах фермента могут быть следствием различной регуляции активности рАЦ ионами Ca^{2+} .

Изучена динамика содержания цАМФ в суспензионных клетках картофеля и арабидопсиса в зависимости от действия абиотического стрессора (высокой температуры) и биотического (экзополисахариды (ЭПС) *Cms*). Сделан вывод, что хотя механизм восприятия сигнала при действии абиотического и биотического стрессоров различен, реакция АСС на неблагоприятные факторы в первую минуту воздействия одинакова и заключается в резком повышении цАМФ и в последующем его снижении. Однако реакция устойчивого и неустойчивого к патогену сортов картофеля различная: у восприимчивого сорта накопление цАМФ идет замедленно и существенно возрастает только через 45 мин., в то время как у устойчивого – уже через 1 мин. Это позволяет предполагать о задержке трансдукции сигнала у восприимчивого сорта, вероятно, в результате ингибирования активности соответствующих аденилатциклаз.

Подтверждением этому служат результаты, приведенные в главе 8, в которой излагаются данные по изучению скорости, интенсивности и специфичности реакции АСС растений на биотический и абиотический стрессоры. Измерение концентрации цАМФ в разных частях стебля пробирочных растений картофеля показало, что у невосприимчивого к патогену сорта картофеля скорость распространения сигнала после действия ЭПС *Cms* к апексу растения во много раз выше,

чем у восприимчивого. Авторы считают, что более вероятным претендентом на роль раннего подвижного сигнала может быть изменение мембранного потенциала, вызванное действием ЭПС патогена и модуляцией активности цАМФ-зависимых каналов. Механизм этого действия, как предполагают авторы, может быть следующим. ЭПС *Sms* влияет на активность мАЦ и повышает в клетке уровень цАМФ, что приводит к открыванию цАМФ-зависимых ионных каналов и в первую очередь кальциевых. Быстрый вход в клетку Ca^{2+} вызывает деполяризацию мембраны и инициирует возникновение потенциала действия (ПД), который с весьма высокой скоростью распространяется по растению. Как известно, ПД может активировать мАЦ. Этим можно объяснить существенное повышение уровня цАМФ в апексе стебля устойчивого сорта уже через минуту после контакта ЭПС с корнями. Торможение распространения сигнала у восприимчивого сорта, по мнению авторов, связано с ингибированием ЭПС патогена активности мАЦ.

При действии неспецифического абиотического стрессора – низкой температуры, величина мембранного ПД практически одинакова у обоих сортов, что обеспечивает примерно одинаковую активацию мАЦ и, следовательно, функционирование АСС в клетках разных по устойчивости к патогену сортов.

Большой интерес представляют данные авторов, изложенные в главе 9 – выявление у растений изоформ аденилатциклазы. Ими впервые обнаружена у растений картофеля и пшеницы изоформа мАЦ, иммунородственная 6-ой изоформе мАЦ животных, которая ингибируется физиологическими концентрациями Ca^{2+} . Изучение изоферментного состава рАЦ с применением моноклональных антител позволило выявить только одну изоформу рАЦ с молекулярной массой близкой к молекулярной массе рАЦ животных. Обращает на себя внимание тот факт, что длительные стрессовые нагрузки не приводят к изменению изоферментного состава как мАЦ, так и рАЦ. В связи с этим авторы предполагают, что регуляция уровня цАМФ у растений при стрессовых воздействиях осуществляется модулированием активности уже имеющегося одного изофермента АЦ.

Глава 10 посвящена выявлению форм АЦ в различных компартментах клетки. Обнаружена активность мАЦ и рАЦ в ядрах и хлоропластах картофеля и эта активность в сильной степени варьировала у сортов, имеющих разную устойчивость к возбудителю корневой гнили. Применение авторами электронной иммуноцитохимии позволило показать присутствие рАЦ во многих компартментах клеток корня и листа: в матриксе митохондрий, ядре, шероховатом эндоплазматическом ретикулуме, в вакуолях и хлоропластах, а также в клеточных стенках и межклетниках. Авторы считают, что такая локализация рАЦ позволяет клетке реагировать на самые ранние стрессовые сигналы и осуществлять межклеточную передачу этих сигналов. Авторы предполагают, что трансдукция сигнала с помощью АСС у растений может осуществляться также через микродомены, локализованные как вблизи плазмалеммы, так и во внутриклеточных органеллах. Однако в любом случае сигнал от внешнего раздражителя воспринимается в первую очередь мАЦ, локализованной в плазмалемме.

Для доказательства механизма трансдукции внутриклеточных сигналов от плазмалеммы к ядру авторы изучили количественное перераспределение цАМФ в клеточных органеллах у двух контрастных по устойчивости к патогену сортов картофеля (глава 11). Используя метод электронной иммуноцитохимии и метку к цАМФ (гранулы золота), авторы показали, что у невосприимчивого к патогену сорта картофеля количество меток к цАМФ во всех исследованных органеллах было существенно выше (особенно в ядре) по сравнению с восприимчивым сортом. Авторы делают вывод, что у устойчивого к патогену сорта картофеля более высокая интенсивность распространения внутриклеточного сигнала через аденилатциклазный сигнальный путь по сравнению с восприимчивым к патогену сортом.

В «Заключении» монографии приводится гипотетическая схема участия АСС в защитных реакциях клеток растений, основу которой составляют результаты исследований авторов. В ней наглядно показано участие АЦ растений в передаче внутри- и межклеточных сигналов при действии специфического (биотического) и неспецифического (абиотического) стрессоров. Авторы подчеркивают, что уже на уровне плазмалеммы происходит формирование сигнала от АСС, стимулирующего возникновение целого ряда цепных внутриклеточных реакций, в том числе активация рАЦ и мАЦ в различных компартментах клетки. Представленный на схеме каскад реакций позволяет, по мнению авторов, ответить на вопрос о роли АСС в дифференциации ответов расте-

НОВІ КНИГИ

ний на стрессовые воздействия различного типа и объяснить сортовую устойчивость растений к патогену.

Оценивая в целом монографию, следует отметить бесспорно весомый вклад авторов в исследования сигнальных систем и устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. Книга хорошо иллюстрирована фотографиями, микрофотографиями и рисунками.

Монография адресована прежде всего исследователям в области устойчивости растений и клеточного сигналинга, однако она будет полезна и интересна и для более широкого круга специалистов – физиологов, биохимиков, иммунологов, молекулярных биологов, а также преподавателей и студентов вузов.

© 2010 г. А. К. Глянько, Ю. Е. Колупаев