

ОГЛЯДИ

УДК 581.11.2:581.573.4

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА РАСТЕНИЙ

© 2011 г. **Л. А. Ломоватская, А. С. Романенко,
Н. В. Филинова, О. В. Рыкун**

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений
Сибирского отделения Российской академии наук
(Иркутск, Россия)*

В обзоре представлены литературные и собственные данные по функционированию аденилатциклазной сигнальной системы у растений. Приводятся многочисленные доказательства участия цАМФ в реакциях растений на различные стрессовые воздействия. Наряду с этим отмечается, что на сегодняшний день не все элементы данного трансдукционного пути изучены одинаково подробно. В частности, не выяснена структура аденилатциклазы растений, остаётся дискуссионным вопрос о присутствии протеинкиназы А, аналогичной по свойствам таковой клеток животных.

Ключевые слова: *цАМФ, мембраносвязанная аденилатциклаза, растворимая аденилатциклаза, фосфодиэстераза цАМФ, ионные каналы, стрессы*

Известно, что у растений функционирует восемь сигнальных систем: аденилатциклазная, кальциевая, липоксигеназная, МАР-киназная, НАДФН-оксидазная, NO-синтазная, протонная и фосфатидатная, участвующие как в онтогенетическом развитии, так и в формировании ответа на изменяющиеся условия существования, в частности, на действия различных абиотических и биотических стрессоров (Ali et al., 2007; Pitzschke et al., 2009). В последнее время стали выделять еще две, так называемые ретроградные сигнальные системы – митохондриальную (Rhoads, Subbaiah, 2007), функционирующую в том числе у дрожжей (Юрина, Одинцова, 2008) и животных (Butow, Avadhani, 2004), а также хлоропластную (Погульская, 2006; Юрина, Одинцова, 2007; Jarvis, 2007; Fernández, Strand, 2008; Pogson et al., 2008; Осипенкова, 2009). Сигналы, исходящие из этих систем, модулируют в стрессовых условиях экспрессию ядерных генов, кодирующих

митохондриальные и хлоропластные белки, соответственно.

Аденилатциклазная сигнальная система растений является одной из наименее исследованных, хотя очевидно, что ее роль во всех вышперечисленных процессах и явлениях должна быть не менее существенной, чем других сигнальных систем. В основном такое отставание было связано с тем, что цАМФ (циклический аденозинмонофосфат) у растений находится в гораздо более низких концентрациях, чем у животных (Newton et al., 1980, 1999), а методы, ориентированные на определение этого вторичного мессенджера у других объектов, не позволяли выявить столь низкие концентрации цАМФ в растительных образцах. Эта проблема породила почти двадцатилетнюю дискуссию о существовании цАМФ у растений. Но развитие приборной базы и соответствующая адаптация к объектам исследования методов спектроскопии, ЯМР, радиоиммунного анализа позволили сделать заключение о присутствии у растений этого вторичного медиатора, а значит, и ключевых компонентов аденилатциклазной сигнальной системы (Каримова и др., 2005; Ломоватская и др., 2007; 2010; Martinez-Atienza et al., 2007).

Адрес для корреспонденции: Ломоватская Лидия Арнольдовна, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонтова, 132, а/я 317, Иркутск, 664033, Россия;
e-mail: Lidal@sifibr.irk.ru

Свое название эта система получила по впервые охарактеризованному у животных ферменту аденилатциклазе, катализирующей образование цАМФ (Sutherland, 1962). Кроме того, в данный сигнальный путь входят рецепторы (GPCR от G protein coupled receptors), G_s (активирующие) и G_i (ингибирующие) белки, фосфодиэстераза цАМФ, ряд протеинкиназ, в том числе протеинкиназа А, специфические белки семейства AKAPs (A-kinase-anchoring proteins) и EPAC (exchange proteins activated by cAMP), а также факторы транскрипции CREBs (cAMP response element-binding proteins). Следует отметить, что все вышеперечисленные компоненты характерны для животных; для растений наличие некоторых элементов, например протеинкиназы А или EPAC, считается недоказанным.

Рецепторы, которые могут принимать участие в аденилатциклязном сигналинге

Для растений пока нет прямых доказательств, свидетельствующих о наличии рецепторов, передающих сигнал на аденилатциклязную сигнальную систему. Однако, большой объем имеющихся литературных данных и наши собственные результаты, хотя и косвенно, но весьма однозначно, говорят о наличии у растений комплекса рецептор/G-белок, осуществляющего передачу внешних импульсов на внутриклеточные сигнальные системы (Sim, Kim, 1987; Romanenko et al., 2003; Gookin, Assman, 2008; Tuteja, 2009; Ломоватская и др., 2010). У растений наряду с двухкомпонентными системами, состоящими из сенсора сигнала (гистидинкиназы, серин-треониновые протеинкиназы) и регулятора ответа (фактор транскрипции), существуют и более сложные системы, включающие в себя рецепторы серпентинового типа и различные G-белки (Шпаков, 2009). У *Arabidopsis thaliana* имеется более 50 генов, кодирующих белки, сходные по структурной организации с рецепторами серпентинового типа животных и грибов (Gookin, Assman, 2008; Шпаков 2009). Однако, по данным генетического анализа, у растений число комбинаций субъединиц G менее разнообразно, чем у животных. Так, у арабидопсиса и риса возможны только два варианта гетеротримерных G-белков, различающихся по G_γ-субъединицам, а у гороха и сои выявлены два типа G_α-субъединиц и одна G_β (Gookin, Assman, 2008; Tuteja, 2009; Шпаков, 2009). Исследование гомологии различных субъединиц G-белков подтвердили их присутствие у широкого ряда растений (Шпаков, 2009) и свиде-

тельствует, скорее всего, о том, что эти компоненты сигнальных систем появились на самых ранних этапах эволюции эукариот, включая грибы, растения и животных. На основании этих данных был сделан вывод о том, что и другие элементы многих сигнальных систем являются эволюционно древними и имеют сходную структурно-функциональную организацию у растений, грибов и животных (Шпаков, 2009).

В ряде работ было показано, что комплексы рецептор-G-белок у растений участвуют в восприятии и трансдукции сигналов как от экзогенных фитогормонов (Millner, 2001; Jones, Assman, 2004; Trusov et al., 2007; Tuteja, 2009), так и от метаболитов грибных и бактериальных патогенов (Kawakita, Doke, 1994; Zhu et al., 2009). Несомненно, что при этом происходит активация и аденилатциклязной сигнальной системы, о чем можно судить по повышенной активности мАЦ и возрастании уровня цАМФ под воздействием фитогормонов (Sim, Kim, 1987) у растений. По нашим данным, активность мембраносвязанной аденилатциклазы (мАЦ) растений картофеля может модулироваться экзополисахаридами (ЭПС) возбудителя кольцевой гнили картофеля, и скорее всего, это происходит через рецепторы, локализованные на плазмалемме клеток растений картофеля (Шафикова и др., 2003; Ломоватская и др., 2010). При этом фторид натрия – активатор мАЦ у животных клеток с участием ГТФ-связывающего центра в G-белках, стимулировал данную форму АЦ, а сурамин, разобщающий связь G-белка с рецептором, почти на 70-90% подавлял активность мАЦ (Ломоватская и др., 2010). Совокупность этих фактов свидетельствует о том, что у растений восприятие и трансдукция внешних сигналов через аденилатциклязную сигнальную систему осуществляются через рецепторы и соответствующие G-белки.

Аденилатциклазы

Аденилатциклаза (АЦ) (АТФ-пирофосфатлиаза циклизующая, КФ 4.6.1.1) катализирует следующую реакцию: АТФ → цАМФ + Ф-Ф_n.

Несмотря на то, что АЦ во всех объектах выполняет одну и ту же функцию и использует один и тот же субстрат, она имеет значительные различия в структуре и регуляции у разных видов живых организмов (Defer et al., 2000). По этой причине все аденилатциклазы на основании сходства аминокислотных последователь-

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА РАСТЕНИЙ

ностей внутри их каталитических доменов делят на несколько классов.

Поскольку микроорганизмы занимают весьма значительный объем в этой классификации, и сведения об особенностях АЦ у этих организмов постоянно обновляются, существующие классификации подвергаются пересмотру. Так, по данным Linder (2006), к первому классу относят мембраносвязанные АЦ, функционирующие преимущественно у многоклеточных животных. Во второй класс входят АЦ, найденные только у простейших; присутствующая у них АЦ содержит внеклеточный домен, предположительно выполняющий рецепторные функции. Наконец, третий класс составляют мембраносвязанные АЦ, присутствующие исключительно в грибах. Сравнительно недавно ввели еще один – четвертый класс, в который выделили так называемую «растворимую» АЦ (Linder, 2006).

Был предложен и другой подход, согласно которому АЦ животных и микроорганизмов были сгруппированы в шесть классов (Kamenetsky et al., 2006), основанных на гомологии последовательностей внутри их каталитических доменов (Danchin, 1993). АЦ из *E. coli* и соответствующих Грам-отрицательных прокариотов вошли в класс I. Класс II охватывает «токсिनные» АЦ из таких бактериальных патогенов, как *Pseudomonas aeruginosa* (Yahr et al., 1998), *Bordetella pertussis*, *Bacillus anthracis* (Linder, 2006). Эти циклазы являются секретруемыми ферментами, которые переносятся в клетки хозяина, где нарушают внутриклеточный сигналинг путем наполнения этих клеток сверхфизиологическими концентрациями цАМФ (Linder, 2006). Эукариотические АЦ и гуанилатциклазы отнесли к классу III, наиболее обширному, куда входят также члены из бактериального и животного царств (Linder, Schultz, 2003; Шпаков, 2007). Классы IV, V и VI, отличающиеся структурой мембранных и каталитических доменов, выделены сравнительно недавно и включают один или несколько прокариотических членов (Sismeiro et al., 1998). К сожалению, АЦ растений пока никак не систематизированы в связи с неполной информацией о нуклеотидных последовательностях каталитических участков этого фермента.

Несмотря на то, что все шесть классов широко представлены у прокариот, все АЦ эукариот – как одноклеточных, так и многоклеточных – возникли из бактериальных АЦ, относящихся также к классу III (Linder, Schultz,

2003; Шпаков, 2007). По своей локализации в клетке АЦ класса III делятся на две большие группы – мембраносвязанные формы фермента (мАЦ), представляющие собой белковые молекулы, один раз или более пронизывающие плазматическую мембрану, и растворимые (цитозольные) (рАЦ) его формы.

Несмотря на то, что сведения об аденилатциклазах растений носят скудный, а зачастую и противоречивый характер (Brown, Newton, 1973; Bhalta, 1984; Carricarte, 1988; Gasumov et al., 1997; Sismeiro, 1998), и в литературе практически отсутствуют данные, касающиеся их структуры, по проявляемым свойствам этот фермент растений можно отнести к III классу. В связи с этим нам представляется целесообразным уделить наибольшее внимание АЦ этого класса и рассмотреть их возможную структуру и механизмы регуляции с привлечением известных сведений по АЦ млекопитающих. Для ознакомления со структурными и функциональными особенностями этого фермента из других классов рекомендуем обратиться к обзору Baker and Kelly (2004).

Мембраносвязанная аденилатциклаза млекопитающих

Как уже упоминалось выше, наиболее типичным представителем АЦ III класса являются мембраносвязанная и растворимая АЦ млекопитающих. У животных и человека этот фермент известен уже более полувека и расшифровке его структуры и функций посвящено немало подробных обзоров (Danchin, 1993; Hanoune, 1997; Ichikawa, Homsy, 1997; Simonds, 1999; Tesmer et al., 1999; Onda, 2001; Wuttke et al., 2001; Sunahara, Taussig, 2002; Linder, 2006). Основные характеристики мембраносвязанной формы АЦ животных следующие. Ее молекулярная масса, в зависимости от исследуемого объекта, варьирует в пределах 180-200 kD (Ishikawa, Homsy, 1997). Для этого фермента характерно наличие нескольких специализированных доменов, связанных друг с другом в следующем порядке: N – терминальный домен, экспонированный в цитозоль, M1 – трансмембранный гидрофобный домен, состоящий из 6 α -спиралей, C1 – большой цитоплазматический домен, M2 – второй трансмембранный спиральный домен, имеющий гликозилный остаток, и C2 – второй цитоплазматический домен, гомологичный первому, находящийся у C-конца. Домены C1 и C2 с молекулярной массой по 25 kD, взаимодействуя по принципу «голова-хвост», образуют один каталитический до-

мен, включающий в себя участок связывания с АТФ, а также сайт связывания с активатором МАЦ форсколином. Модуляция активности МАЦ α -субъединицей G-белка: G_s (стимулирующая) и G_i (ингибирующая) (Dessauer, 1999) тоже происходит в отдельном участке каталитического центра этого фермента.

Такая особенность конструкции позволяет осуществлять регуляцию, специфичную для каждой изоформы АЦ (Defer et al., 2000).

Регуляция активности МАЦ животных

Каталитическая активность МАЦ может модифицироваться на уровне самой молекулы. Применение мутагенов позволило выявить восемь консервативных остатков в мономерах C1/C2, участвующих в субстратном связывании и катализе (Yan et al., 1998; Sunahara, Taussig, 2002). Например, Lis938 и Asp1018 связывают адениновый мотив, и это имеет решающее значение в выборе субстрата – АТФ или ГТФ. Asp396 и Asp440 направляют два кофакторных иона – Mg^{2+} или Mn^{2+} , которые координируют трифосфатный мотив и позицию 3' – ОН при нуклеофильной атаке на α -фосфат. Есть данные о том, что Arg1029 стабилизирует переход из треугольного в бипирамидальное состояние фермента, нейтрализуя негативный заряд при α -фосфате. Asn1025 стабилизирует рибозу в оптимальном для катализа конформационном положении. И, наконец, Arg 484 и Lis1065 помогают позиционированию пирофосфата в данной группе (Linder, 2006).

Предполагается, что каталитически активными домены C1/C2 МАЦ могут стать только в состоянии димеров (Ishikawa, Homcy, 1997). Такая гипотеза была выдвинута на основе высокой гомологии между каталитической субъединицей МАЦ и растворимой формой гуанилатциклазы, проявляющей активность только в димеризованном состоянии. Так, было показано, что две субъединицы гуанилатциклазы, α и β , которые являются отдельными генпродуктами, должны коэкспрессироваться при катализе синтеза цГМФ (Sunahara et al., 2002). Аналогичная ситуация, вероятно, складывается и для МАЦ. Есть данные о том, что у изоформ АЦ I, II и V типов экспрессия либо α -половины (M1/C1) либо β -половины (M2/C2) одной молекулы недостаточна для генерации энзиматической активности (Tang, Gilman, 1991; Katsushika et al., 1992). Каталитическая активность становится возможной, когда коэкспрессируются две половины молекулы фермента (Gu et al., 2001). Интересно, что два каталитических домена

(или половины) могут быть из разных источников, то есть представлять собой химеру; так молекула, названная 1- α /2- β , содержащая фронтальную половину (M1C1) типа I и заднюю половину (M2C2) типа II, также проявляла энзиматическую активность (Levin, Reed, 1995).

Кроме того, исследования химерных молекул МАЦ показали, что некаталитические домены, такие как концевые области N/C одной из изоформ, также несут каталитическую «нагрузку», например, в случае химерной конструкции АЦ I/V типа – I тип, но не V (Premont et al., 1996). Это предполагает, что определенные домены могут модифицировать ферментативную активность в соответствии с типом изоформы, к которой они принадлежат, и, возможно, активность не только химерных молекул (Iwami et al., 1995).

Также представляют определенный интерес данные о том, что трансмембранные домены M1/M2 могут влиять на ферментативную активность при изменении мембранного потенциала, приводящего к конформационным сдвигам трансмембранной субъединицы АЦ (Reddy et al., 1995). Этот механизм особенно применим для возбудимых клеток, таких как нейроны и кардиоциты, где АЦ сама может играть первичную роль (без участия рецептора) в чувствительности и моделировании клеточных ответов на стимулы. Домены M1 и M2, кроме обеспечения основной активности каталитических доменов, необходимы для «заякоривания» фермента в плазмомембране. Так, было показано, что химерная изоформа АЦ без M1 или M2 оставалась в эндоплазматическом ретикулуме (Gu et al., 1999). Кроме того, известно, что M2, в основном, отвечает за межмолекулярные взаимодействия (Linder, 2006).

Таким образом, несмотря на то, что два каталитических домена (C1/C2) необходимы для ферментативной активности, другие домены также вносят свой вклад в полный биохимический и регуляторный профиль интактной молекулы.

Помимо упомянутого каталитического механизма, активность МАЦ млекопитающих может регулироваться G-белками. В зависимости от свойств изоформ, экспрессирующихся в определенных типах клеток или ткани, внеклеточные сигналы, воспринимаемые рецепторами, сопряженными с G-белками, могут быть интегрированы по-разному. Активация или ингибирование МАЦ всегда осуществляются через соответствующие лиганд-рецепторные взаимо-

действия и G-белки различных типов. При контакте лиганда с рецептором в последнем возникают конформационные изменения, влекущие за собой аналогичные изменения α -субъединицы G-белка. В то же время различные эффекторы могут по отдельности активировать α - и $\beta\gamma$ -субъединицы, а G-белки могут быть стимулирующего или ингибирующего типа, в зависимости от выполняемых ими функций (Chen, Iyengar, 1993; Sunahara, Taussig, 2002).

Известно, что ионы кальция и кальций-связывающий белок кальмодулин являются весьма эффективными модуляторами активности мембранной и растворимой форм АЦ (Choi et al., 1992; Cali et al., 1994; Willoughby, Cooper, 2006). Помимо указанных агентов, к регуляторам активности АЦ III типа можно отнести форсколин, пиродифосфат и ингибиторы P-сайта (Tang, Gilman, 1991; Dessauer et al., 1999; Shoshani, 1999; Kudlacek et al., 2001; Onda et al., 2001).

На посттрансляционном уровне модулирующий эффект на активность мАЦ могут оказывать процессы фосфорилирования, гликозилирования, а также S-нитрозилирования (Hill et al., 1995; Gu et al., 2001).

Растворимая АЦ млекопитающих

Растворимая аденилатциклаза (рАЦ) клеток животных была наиболее подробно исследована в последнее десятилетие, когда большая часть основополагающих работ была выполнена на экстрактах из яичек крыс (Buck et al., 1999; Wuttke et al., 2001; Litvin et al., 2003; Zippin et al., 2003). В отличие от мАЦ, биохимическая активность рАЦ зависела от двухвалентного катиона Mn^{2+} , была нечувствительна к регуляции G-белками, форсколином и проявляла более низкую аффинность к субстрату – АТФ ($K_m \sim 1$ мМ), у мАЦ ($K_m \sim 1$ мкМ). Кроме того, рАЦ в клетках животных оказалась весьма отзывчивой на изменения концентраций внутриклеточного бикарбоната (Litvin et al., 2003; Zippin et al., 2003). Повсеместное присутствие карбонатных ангидраз в организме животных указывает на то, что внутриклеточные концентрации бикарбоната (и активность рАЦ) могут отражать изменения в рН и/или CO_2 (Pastor-Soler et al., 2003). Поскольку CO_2 является конечным продуктом энергообразующих процессов, рАЦ может выполнять функцию внутриклеточного сенсора метаболической активности (Zippin et al., 2001).

Анализ полноразмерной кДНК показал, что предсказанный кодируемый белок должен быть размером 187 kD, тогда как каталитически активная форма очищенного фермента содержит N-концевой участок и имеет молекулярную массу всего 48 kD, что предполагает протеолитический механизм активации рАЦ (Buck et al., 1999). В то же время полноразмерная форма рАЦ, кроме двух каталитических доменов, содержит C-концевой автоингибиторный домен. Его роль заключается в снижении V_{max} без изменения сродства к субстрату (Chaloupka et al., 2005). Отличительной чертой рАЦ является наличие у нее согласованной P-петли, связывающей АТФ (Wuttke et al., 2001). Может ли этот участок связывать нуклеотид по возможному типу модуляторного механизма, наподобие мембранных гуанилатциклаз, предстоит еще выяснить (Zippin et al., 2003). Кроме того, в C-концевой части рАЦ есть аминокислотная последовательность с высоким содержанием лейцина, так называемый потенциал лейциновой застёжки или домен спираль-спирального взаимодействия неизвестного назначения (Wong et al., 1995). Есть предположение, что этот участок необходим как домен белок-белкового взаимодействия, вероятно, для прикрепления рАЦ к цитоскелету (Buck et al., 1999).

По данным Zippin et al. (2003), рАЦ в клетках животных специфически привязана к различным внутриклеточным компартментам и структурам – митохондриям, центриолям, митотическому веретену, срединным пластинкам и ядру. Причем у укороченной формы рАЦ имеются два домена, локализованные с каталитическими доменами – 145-200 и 257-318 аминокислотными остатками, без которых невозможно функционирование фермента в ядре (Feng et al., 2006). Наличие рАЦ внутри оргanelл, а также ЕРАС в перинуклеарном пространстве, внутри митохондрий (Qiao et al., 2002) и АКАРс в ядерном матриксе, мембране и митохондриях (Colledge, Scott, 1999), указывает на возможность существования всего аденилатциклазного сигнального каскада во внутриклеточных компартментах (Zippin et al., 2003). Вероятно, что рАЦ в ядре является активной и присутствует только в функциональной форме. То же самое относится и к митохондриям.

Как уже упоминалось выше, одним из эффективных стимуляторов активности рАЦ являются ионы бикарбоната (Zippin et al., 2003; Pastor-Soler et al., 2003). Механизм активации

основан на увеличении V_{max} в результате конформационных изменений фермента и снижении субстратного ингибирования при высоких концентрациях АТФ (Litvin et al., 2003; Steegborn et al., 2005). Кроме того, бикарбонат способствует активации транскрипционных факторов CREBs, выполняя таким образом функцию индуктора трансдукции сигнального каскада (Bevensee et al., 2000). Еще одним стимулирующим агентом для рАЦ является Ca^{2+} . У рАЦ ионы кальция непосредственно стимулируют ее активность, замещая в активном центре Mg^{2+} (Litvin et al., 2003; Steegborn et al., 2005). Вместе ионы бикарбоната и кальция оказывают значительный синергический эффект на активность рАЦ клеток животных, в частности, из яичек крыс (Litvin et al., 2003).

Довольно подробное рассмотрение строения, свойств и способов регуляции активности мАЦ и рАЦ, принадлежащих к III типу, приведенное в этом обзоре, не случайно, поскольку предполагается, что у растений функционирует аденилатциклаза, сходная по строению с мАЦ млекопитающих. Такое мнение основано на том, что многие регуляторы активности этого фермента у животных оказывают аналогичный эффект на мАЦ растений (Lusini et al., 1990).

Мембраносвязанная аденилатциклаза растений

Для растений нет литературных данных по изоферментному составу этого фермента, но известно, что одни и те же агенты (Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+}) могут оказывать различный, а зачастую и противоположный эффект на активность растительной мАЦ (Carricarte et al., 1988; Lusini et al., 1990). Этот факт косвенно указывает на присутствие у растений нескольких изоформ мАЦ. Наши исследования показали, что у картофеля, а также озимой и яровой пшеницы, имеется изоформа мАЦ, иммунородственная VI изоформе мАЦ животных, которая ингибируется физиологическими концентрациями кальция (Ломоватская и др., 2010).

Наиболее ранние сведения об активности мАЦ растений были получены на ультраструктурном уровне с использованием метода каталитической цитохимии. Выявление продукта реакции АЦ – неорганического фосфата (P_n), образующегося в результате синтеза цАМФ из АТФ, основано на преципитации P_n тяжелыми металлами, в частности, солями свинца или цезия (Tu, 1979). Однако этот метод недостаточно корректен, поскольку, с одной стороны, P_n может являться продуктом реакции многих

ферментов, например АТФазы и РНКазы, а с другой стороны, возможно подавление активности фермента фиксатором, а также солями тяжелых металлов. Тем не менее, рассматриваемым методом активность АЦ выявлялась у растений на внутренней и внешней сторонах плазматической мембраны, и в мембранах хлоропластов, но не обнаруживалась в таких органеллах, как митохондрии, эндоплазматический ретикулум, лизосомы (Tu, 1979).

Другие авторы (Bhalta, Chopra, 1984), используя в качестве специфического субстрата аденилимидодифосфат, выявили локализацию мАЦ в плазматической мембране, на вакуолярной мембране и мембранной системе пластид в клетках проростков *Bryum argenteum*, но не обнаружили на мембранах других клеточных органелл (Bhalta, Chopra, 1984). Уиттерс и Купер, применяя аденилимидодифосфат также в качестве субстрата и антитела к цАМФ, меченные золотом, идентифицировали продукт функционирования аденилатциклазы в стромах и межмембранном пространстве изолированных хлоропластов табака (Witters et al., 2004, 2005). В то же время биохимическими методами активность этого фермента была найдена во фракциях митохондрий и вакуолярных мембран (Brown, Newton, 1973; Tu, 1979; Brown et al., 1980).

Согласно литературным данным, оптимум рН мАЦ растений имеет значительный разброс: выявлена форма мАЦ с оптимумом активности при рН 4,8-5,2 (Выскребенцева, Иванов, 1981), но также есть сведения об изоформе с оптимумом активности в щелочной области (рН 8,8) (Тарчевский, 2001). Наши исследования показали, что у растений картофеля функционирует мАЦ с оптимумом рН 7,2 (Ломоватская и др., 2007). Для мАЦ растений, также как АЦ животных и микроорганизмов, в качестве катализатора необходимы ионы магния. Форсколин и фторид натрия оказывают на эту форму фермента стимулирующий эффект (Lusini et al., 1990; Каримова и др., 2005).

Растворимая аденилатциклаза растений

По растворимой АЦ растений в литературе существует еще более противоречивая информация. Так, из корней люцерны (*Medicago sativa*) была выделена фракция растворимой АЦ и частично изучены ее свойства (Carricarte et al., 1988). Как оказалось, ее активность, измеренная в присутствии $MgATP$ в качестве субстрата, стимулировалась ионами Ca^{2+}

и кальмодулином. ГТФ, гуанозин 5'-[β-имида]трифосфат, форсколин, фторид и холерный токсин (общеизвестные модуляторы животной трансмембранной АЦ) не активировали этот фермент. Авторы установили некоторые молекулярные характеристики исследуемого энзима: коэффициент седиментации 4.1S; стоксовский радиус 4,4 нм. Ишикава с коллегами (Ichikawa et al., 1997) в клетках растений табака выявили белок, по их мнению, также являющийся «растворимой» АЦ. Изучаемый фермент имел в своей структуре лейцин-обогащенную последовательность и значительную гомологию с аналогичным ферментом из дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*. Такие выводы были сделаны на основе анализа соответствующего гена, кодирующего аденилатциклазу и названного axi141.

Регуляция активности мАЦ и рАЦ растений факторами внешней среды

Так как растительная АЦ является частью сигнальной системы, весьма значительное влияние на ее активность оказывают факторы окружающей среды как абиотической, так и биотической природы. Есть сведения, что низкая температура (Яворская, Калинин, 1984; Каримова и др., 2005), экзогенные фитогормоны (Sim, Kim, 1987), свет (Феденко и др., 1983; Gasumov et al., 1997; Koumura et al., 2004), а также вирусы, грибные и бактериальные метаболиты весьма существенно влияют на изменение концентрации эндогенного цАМФ (Tu, 1979; Cook et al., 1994; Jiang et al., 2005; Ломоватская и др., 2005; 2007; 2010), что косвенно свидетельствует о модулировании активности АЦ. Прямые доказательства активации АЦ были получены Феденко с соавт. (1983) и Gasumov et al. (1997), которые выявили светоиндуцируемую трансмембранную и растворимую АЦ у растений, соответственно. АЦ в мембранной фракции проявляла сезонные изменения в активности по отношению к красному и дальнему красному свету, а фракция, содержащая растворимую АЦ, оказалась чувствительна как к красному, так и к дальнему красному свету и не меняла ее в зависимости от сезона (Gasumov et al., 1997). Феденко с соавт. (1983) также показали, что мембранная АЦ у растений активируется светом, поглощаемым фитохромом при длине волны 660 нм. Действие красного света снималось дальним красным светом ($\lambda=730$ нм), что характерно для процессов, контролируемых фитохромом. У одноклеточной водоросли *Euglena gracilis* обнаружена

фотоактивируемая АЦ, которая является рецепторным флавопротеином (Koumura et al., 2004).

По нашим данным, обе формы АЦ из растений картофеля *in vitro* активно реагируют на воздействие экзополисахаридов возбудителя кольцевой гнили картофеля, которые являются фактором патогенности последних. Так мАЦ и рАЦ из растений устойчивого сорта значительно активировались под действием этого метаболита, а те же формы фермента из растений восприимчивого сорта картофеля существенно ингибировались. Кроме того, аналогичная зависимость активности АЦ была прослежена и в хлоропластах и ядрах клеток растений тех же сортов картофеля. На основании полученных результатов мы предполагаем, что одним из механизмов, обеспечивающих на ранних этапах патогенеза реализацию защитных ответов у картофеля, является степень активации обеих форм АЦ (Ломоватская и др., 2010).

Биоинформационный анализ АЦ растений

На современном этапе исследований одним из наиболее актуальных вопросов, касающихся функционирования аденилатциклазной сигнальной системы у растений, является проблема идентификации молекулярной структуры имеющихся форм АЦ (Gehring, 2010). Ситуация осложняется тем, что, как правило, поиски нуклеотидных последовательностей любых белков начинаются с генетической базы данных арабидопсиса, где имеется большое количество еще неохарактеризованных белков. По этой причине, в частности, нет единого мнения по поводу существования у растений АЦ. Тем не менее, поиски мембраносвязанной АЦ в GenBank позволили нам обнаружить этот фермент у большого количества растительных культур (*Arabidopsis thaliana*, *Arabidopsis lyrata*, *Populus trichocarpa*, *Ricinus communis*, *Ipomoea*, *Hippeastrum*, *Zea mays*). Справедливости ради следует отметить, что для найденных АЦ не уточняется форма (мембраносвязанная или растворимая), но упоминание в комментариях «response to abscisic acid stimulus» (AT1G73980 в GenBank), позволяет сказать, что речь идет о мембраносвязанной АЦ, поскольку данный фитогормон является классическим активатором этой формы фермента (Sim, Kim, 1987; Каримова и др., 1990).

В отношении рАЦ, судя по литературным данным, ситуация более противоречивая. Так, Roelofs & Van Haastert (2002), проведя анализ соответствующей базы данных и сравнительное

изучение геномов многих про- и эукариот, сделали вывод, что у арабидопсиса, и, очевидно, у растений вообще, рАЦ отсутствует. В определенной мере это может быть связано с тем, что согласно работе Moutinho et al. (2001), гены АЦ у растений могут быть замаскированы среди широкого спектра больших семейств генов, в частности, R-генов, которых насчитывается, например, в арабидопсисе 200-300, а в рисе – порядка 1500. В пользу этого свидетельствует и тот факт, что белки, транскрипты R-генов, непосредственно активируют множественные сигнальные пути у растений, а защитные ответы последних реализуются в пределах нескольких минут (Moutinho et al., 2001). Эти авторы, проведя частичный сиквенс белка, выделенного из пыльцы *Agapanthus umbellatus*, и сравнив полученные данные с библиотекой кДНК кукурузы, пришли к выводу, что Р-петля для связи с АТФ и наличие лейцин-обогащенной последовательности белка из пыльцы могут принадлежать рАЦ (Moutinho et al., 2001). Предпринятые нами попытки по поиску рАЦ в базе данных картофеля с использованием нуклеотидной последовательности *Nicotiana benthamiana*, опубликованной в работе Ichikawa et al. (1997) и названной авторами axi 141, позволили обнаружить белки, содержащие также лейцин-обогащенную последовательность и центр связывания нуклеотидов, что может косвенно указывать на присутствие рАЦ. Мы полагаем, что когда геном картофеля будет секвенирован полностью, поиски АЦ в генетической базе данных этой культуры увенчаются успехом. Такой вывод подтверждается и тем, что при сравнении вышеупомянутой нуклеотидной последовательности с базами данных для других растительных объектов из GenBank, нам удалось обнаружить рАЦ в рисе, кукурузе и арабидопсисе, причем совпадение последовательностей составляло 100%. Следует добавить, что анализ, проведенный Ichikawa с коллегами, позволил выявить значительную гомологию axi 141 с аналогичным ферментом из дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* и установить 57% идентичности 1,4 kb ДНК арабидопсиса с геном axi 141 из табака (Ichikawa et al., 1997).

Интересно отметить, что наряду с этим, нами был обнаружен ряд белков с неустановленными функциями в широком наборе культур (*Vitis vinifera*, *Picea sitchensis*, *Arabidopsis thaliana*, *Arabidopsis lyrata*, *Populus trichocarpa*, *Ricinus communis*), также обладающими 100% совпадением нуклеотидных последовательностей с рАЦ из *Nicotiana benthamiana*.

Анализ вышеприведенной информации позволяет предположить, что по мере расширения баз данных нуклеотидных последовательностей различных видов растений, наличие АЦ у растений станет очевидным.

Фосфодиэстераза цАМФ растений

Наиболее изученным ферментом обмена цАМФ в растительных организмах является фосфодиэстераза цАМФ (ФДЭ цАМФ, КФ 3.1.4.17), фермент расщепляющий цАМФ. Этот энзим целым рядом свойств отличается от ФДЭ тканей животных и микроорганизмов (Игуменов, Этингоф, 1980; Драгозов и др., 1997; Abel et al., 2000). Растительным ФДЭ свойственен иной оптимум рН реакции расщепления цАМФ, а также состав продуктов этой реакции. Преимущественными субстратами ФДЭ клеток животных являются цАМФ, а также цГМФ, а продукты их разложения – соответствующие 5'-моноклеотиды. При ферментном расщеплении цАМФ растительными ФДЭ образуется смесь 5'- и 3'-АМФ в соотношении 1:5, 1:2, 1:7 или даже 1:50 (Яворская и др., 1984). Эти ФДЭ в отношении субстратов менее специфичны: кроме 3',5'-цАМФ они способны разлагать также 2',3'-циклические нуклеотиды и, таким образом, могут принимать участие в деградации РНК (Abel et al., 2000). Преимущественный гидролиз того или иного нуклеотида зависит от концентрации водородных ионов, наличия ионов металлов, а также присутствия других нуклеотидов (Niles, Mount, 1974). Растительные ФДЭ нечувствительны к действию двухвалентных ионов металлов (Mn^{2+} и Mg^{2+}) в миллимолярных концентрациях, а также комплексонов (ЭДТА, ЭГТА). Оптимум реакции ферментативного расщепления цАМФ растительными ФДЭ, в отличие от клеток животных и микроорганизмов, находится в кислом диапазоне рН (от 5 до 6). Однако, есть данные о том, что оптимум рН ФДЭ отдельных растений может быть сдвинут в щелочную сторону (Brown et al., 1977). Большинство описанных растительных ФДЭ обладает низким сродством к цАМФ (Abel et al., 2000). Так, K_m для ФДЭ проростков пшеницы составляет 4×10^{-3} М (Игуменов, Этингоф, 1980), клубней топинамбура $6,8 \times 10^{-3}$ М.

Есть сведения о том, что свойства ФДЭ зависят от ее внутриклеточной локализации (Brown et al., 1977). ФДЭ из фракции микросом и из хлоропластов листьев шпината значительно отличались друг от друга: оптимум рН хлоропластного энзима – 5,8, микросомального –

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА РАСТЕНИЙ

4,9, причем последний более специфичен по отношению к 2',3'-циклическим нуклеотидам как субстратам, чем к 3',5'-циклофосфатам. По-разному эти два фермента вели себя в присутствии метилксантинов, в частности теофиллина, эндогенных ингибиторов ФДЭ клеток животных, а также ионов кальция: более чувствительной к этим факторам оказалась хлоропластная ФДЭ (Яворская, Калинин, 1984).

Гель-фильтрация суммарных препаратов ФДЭ из листьев шпината позволила обнаружить два различных пика, обладающих фосфодиэстеразной активностью (Brown et al., 1977). Первый пик затем разделялся на пять фракций белков, два из которых (1с и 1м) проявляли активность ФДЭ. 1с-белок обладал свойствами хлоропластного энзима: проявлял субстратную специфичность к 3',5'-циклофосфатам, в частности к цАМФ и цГМФ, стимулировался ионами кальция, активность его тормозилась теофиллином. Второй белок (1м) обнаруживал свойства микросомальной ФДЭ. При дальнейшей очистке ФДЭ из листьев шпината 1с-белок разделялся на две субфракции с молекулярными массами 187 и 370 kD, которые обладали активностью кислой фосфатазы, РНКазы, нуклеотидазы и АТФазы. 1м-белок из микросомальной фракции разделялся на две субфракции, проявляющие активность АТФазы, РНКазы, нуклеотидазы (но не кислой фосфатазы), что свидетельствует о сложной структуре фосфодиэстеразных белков клеток высших растений, образующих своеобразные мультиферментные комплексы (Brown et al., 1977; Abel et al., 2000).

По некоторым данным, ФДЭ способна экскретироваться во внеклеточное пространство, что наблюдалось при фосфатном голодании культуры клеток томата (Abel et al., 2000). Активность ФДЭ в условиях *in vitro* тормозилась фитогормоном кинетином и его аналогами. В то же время вещества, обладающие цитокининовой активностью, не оказывали подавляющего действия на ФДЭ тканей подсолнечника. Из физических факторов на ФДЭ существенное влияние оказывает свет (Феденко и др., 2004). Работа была проведена с первой фракцией ФДЭ цАМФ, высаливающейся при насыщении сульфатом аммония до 50% и проявляющей высокую активность в кислой и щелочной областях. Как оказалось, действие красного света (660 нм, 4 мин освещения) на ФДЭ1 было аналогичным влиянию на нее дневного света. Выращивание растений на свету и 3-минутное освещение этиолированных пророст-

ков красным светом приводили к снижению активности ФДЭ1 приблизительно в 1,5 раза по сравнению с темновым контролем (Феденко и др., 1988). Освещение этиолированных проростков вслед за красным светом дальним красным светом почти не снимало ингибирующего эффекта красного.

цАМФ – вторичный мессенджер растений

Аденозин 3',5'-циклический монофосфат был открыт в 1956 году Сазерлендом как термостабильный фактор, опосредующий действие адреналина и глюкагона на активацию фосфодиэстеразы животных (Sutherland et al., 1962). За исключением безъядерных эритроцитов, цАМФ является вездесущим в животных клетках, где он медирует влияние кратковременных воздействий окружающей среды, в том числе гормонов, таких как вазопрессин, секретин, окситоцин, адреналин, норадреналин и глюкагон (Зинченко, Долгачева, 2003). В 1965 году Макман и Сазерленд (Makman, Sutherland, 1965; цит. по Brown, Newton, 1973) обнаружили цАМФ в клетках *Escherichia coli*. Таким образом, было показано, что цАМФ является «вторичным мессенджером» не только в животных тканях, но также функционирует как регулятор генной экспрессии в бактериях.

Долгое время считалось, что у растений цАМФ не синтезируется (Amrhein, 1977). Эти сведения на протяжении ряда лет производили своеобразный «негативный эффект» на развитие данной потенциально важной области биохимии растений. Однако позже методами газожидкостной хроматографии и масс-спектрометрии было установлено, что цАМФ-подобное вещество, выделяемое из клеток высших растений, является циклическим 3',5'-АМФ (Newton et al., 1980; 1999).

Что касается концентраций цАМФ, определяемых в растительных образцах, то по литературным данным можно сделать вывод, что они в клетках разных видов растений могут колебаться от предельно низких (фемтомольных) до весьма значительных величин (десятки микромолей) (Tu, 1979; Яворская, Калинин, 1984; Cooke et al., 1994; Lomovatskaya et al., 2011). Такой разброс в получаемых данных зависит от используемых методов и от степени очистки препаратов, а также от факторов внешней среды, оказывающих существенное влияние на уровень данного вторичного мессенджера.

На основе экспериментальных данных было установлено, что у одноклеточных и многоклеточных организмов существует еще один способ регуляции концентрации цАМФ – выделение циклических нуклеотидов в окружающую среду (Ивашкин и др., 1987; Каримова и др., 1993; Орлов, Максимова, 1999; Ломоватская и др., 2004). Так, у прокариот внеклеточный уровень цАМФ составлял 98% от общего количества данного нуклеотида в клетках. При инкубации клеток животных с гормонами, 80-90% всего синтезированного цАМФ обнаруживалось вне клетки (Орлов, Максимова, 1999). Секретция цАМФ из клеток энергозависима, подавляется ингибиторами формирования микротрубочек, различными простагландинами, активируется гормонами и повышается с увеличением активности аденилатциклазы (Fehr et al., 1990). Клетки водорослей, мхов и высших растений также выделяют значительные количества цАМФ (Каримова и др., 1993; Ломоватская и др., 2004). Хотя физиологическая значимость этого феномена не выяснена, предполагается роль цАМФ как фактора, определяющего межклеточные взаимодействия (Яворская, 1990; Fehr et al., 1990; Ломоватская и др., 2004).

Функциональная роль цАМФ в растительных организмах в настоящее время активно исследуется. По некоторым данным, цАМФ, также как и у животных, осуществляет преобразование и трансдукцию внеклеточного сигнала в генетический аппарат растительной клетки, регулируя такие фундаментальные клеточные процессы, как рост, метаболизм, дифференциацию, а также апоптоз. В основе этого процесса лежит его специфическое взаимодействие с цАМФ-зависимыми протеинкиназами, цАМФ-регулируемыми ионными каналами, цАМФ-фосфодиэстеразами, транскрипционными факторами и другими эффекторными и регуляторными белками, являющимися компонентами аденилатциклазной сигнальной системы растений (Brown et al., 1977; Abel et al., 2000; Каримова и др., 2005; Chin et al., 2009).

Кроме того, этот вторичный мессенджер, в числе других сигнальных молекул, обеспечивает своевременную реакцию растительного организма на изменившиеся условия внешней среды. Так, в ряде работ показано изменение уровня цАМФ в зависимости от фазы роста клеток, изменения режима питания, морфологии и пр. (Truelsen, Wyndaele, 1978; Sharaf, Roney, 1982; Яворская, 1990). Колебательный характер содержания цАМФ также наблюдали в каллусной ткани табака (Sharaf, Roney, 1982)

и подсолнечника (VanOnckenen et al., 1982), на различных фазах клеточного цикла (Семенов и др., 1993), в стрессовых условиях (Яворская, 1990; Ломоватская и др., 2005). Значительная роль принадлежит цАМФ в процессе роста и реориентации пыльцевой трубки (Moutinho et al., 2001). Более того, на основании анализа концентрации цАМФ, активности аденилатциклазы и фосфодиэстеразы до и после перекрестного опыления, была предположена тесная взаимосвязь между самонесовместимостью и уровнем цАМФ (Tsuruhara, Tezuka, 2002). Большое значение придается цАМФ в регуляции закрытия устьиц и свиллинга протопластов, где он оказывает влияние на концентрацию свободного цитозольного кальция (Curvetto et al., 1994). В суспензионных клетках моркови и люцерны цАМФ стимулировал вход кальция и элиситор-индуцированное накопление фитоалексина (Cooke et al., 1994). Bindschedler с соавторами (2001) доказали, что вход кальция, вызванный грибным элиситором и окислительным взрывом, может происходить с участием цАМФ. Установлено, что под воздействием экзополисахаридов возбудителя кольцевой гнили картофеля системно меняется концентрация цАМФ в растениях картофеля *in vitro*. Более того, этот феномен имел более быстрый и выраженный эффект на растениях сорта, устойчивого к данному бактериальному возбудителю, в отличие от восприимчивого сорта (Ломоватская и др., 2010). Показано, что цАМФ влияет на регуляцию синтеза ряда ферментов, нуклеиновых кислот, фитогормонов, бетацианиновых пигментов, терпеноидов и полирибосом (Игуменов, Этингоф, 1980). Используя метод пэтч-клямп, Li et al. (1994) нашли, что цАМФ регулирует вывод калия в клетках фасоли с участием цАМФ-зависимых протеинкиназ.

Volotovskii et al. (1998) прямо зафиксировали цАМФ- и цГМФ- зависимое повышение уровня цитозольного кальция в протопластах табака, обеспечив твердое доказательство того, что аденилатциклазный сигнальный путь взаимодействует с кальциевой системой.

цАМФ – регулируемые ионные каналы растительных клеток

Обсуждая аденилатциклазную сигнальную систему, нельзя не упомянуть и обширный класс цАМФ-регулируемых ионных каналов. Растительные ионные каналы, открываемые циклическими нуклеотидами (*cyclic nucleotide-gated channels – CNGCs*), впервые

были обнаружены в 1994 году (Li et al., 1994). Было установлено, что они имеют сходство в аминокислотной последовательности с «шэйкер»-подобными K^+ каналами животных (Zimmermann et al., 1999; Talke et al., 2003; Kaplan et al., 2007), а CNGCs из *Arabidopsis thaliana* обладают высокой гомологией с каналами животных клеток, открываемыми циклическими нуклеотидами (Leng et al., 1999; Kaplan et al., 2007). Члены семейства CNGC были изолированы из различных видов растений, в частности из табака и ячменя (Arazi et al., 1999). Предполагается, что растительные и животные CNGCs состоят из шести доменов (S1-S6), пронизывающих мембрану, порового домена (P-loop) между S5 и S6, С-концевого нуклеотид-связывающего домена (CNB) и Ca^{2+} -кальмодулин-связывающего домена (CaMB), частично перекрывающего CNB домен. Локализация CaMB домена отличается от таковой в животных клетках, в которых он находится на N-конце. Это говорит о том, что присоединение кальмодулина к С-концу может служить препятствием для присоединения циклического нуклеотида и активации канала (Arazi et al., 1999). Этот предполагаемый механизм для регуляции кальмодулином растительных CNGCs был также описан для обонятельных CNG каналов животных. Считается, что функциональные CNG каналы животных являются гетеротетрамерами (Talke et al., 2003). В растениях предположительно CNGCs могут быть подобными, однако нет данных, какие субъединицы объединены, чтобы сформировать функциональные каналы. Присутствие большого семейства CNGC генов в растениях дает возможность для формирования широкого спектра гетеромерных каналов и высокой степени их функциональной вариабельности и специализации (Köhler et al., 2001).

Несмотря на то, что CNGCs экспрессируются во многих тканях, их физиологическая роль все еще до конца не ясна (Chin et al., 2009). Есть доказательства того, что общая функция этих каналов состоит в повышении уровня внутриклеточного Ca^{2+} (Bradley et al., 1997). Так, каналы в клетках табака (NtCBP4) и арабидопсиса (AtCNGC1) участвуют в транспорте металлов через плазматическую мембрану (Kaplan et al., 2007). Мутанты проростков арабидопсиса, дефицитные по каналу AtCNGC1, содержали гораздо более низкие уровни Ca^{2+} по сравнению с растениями дикого типа (Kaplan et al., 2007; Ma et al., 2009a; 2009b).

Установлено, что в зависимости от тканевой специфичности, такие каналы могут отличаться по строению, а также по отношению к цАМФ. Было обнаружено, что на плазматической мембране протопластов корней *Arabidopsis* неселективные ионные каналы быстро и обратимо ингибировались циклическими нуклеотидами (Maathuis, Sanders, 2001).

В литературе широко обсуждается вопрос о связи цАМФ сигнализации с кальциевыми потоками. Анализ таких потоков показал, что вход кальция через плазматическую мембрану индуцировался цАМФ и ингибировался кальмодулином, ассоциированным с мембраной (Kurosaki, Nishy, 1993). Было обнаружено, что белки, формирующие кальциевые каналы, имеют сродство к цАМФ и кальмодулину, что позволило сделать вывод о совместном влиянии аденилатциклазной и кальциевой сигнальных систем на ионные потоки в клетках, отвечающих на воздействие внешних, в том числе, элиситорных сигналов. Установлено, что потоки Ca^{2+} , так же как K^+ и Cl^- , участвуют в ранних этапах развития защитного ответа растения против патогена (Ward et al., 1995; Arazi et al., 1999). Так как Ca^{2+} является сигнальным вторичным мессенджером, CNG-каналы участвуют во многих физиологических процессах у растений.

Относительно недавно на протопластах, выделенных из корней арабидопсиса, был обнаружен независимый от напряжения катионный нуклеотид-открываемый канал, который обратимо инактивировался циклическими нуклеотидами (Maathuis, Sanders, 2001). Этот канал посредством цГМФ и цАМФ регулировал поступление в клетку ионов Na^+ , тем самым участвуя в солеустойчивости растений. Кроме того, установлено, что участие CNG-каналов необходимо в защитных ответах клеток растений (Bindschedler et al., 2001): в культуре клеток *Medicago sativa* в ответ на грибной элиситор наблюдали рост концентрации цАМФ и ионов Ca^{2+} (Cooke et al., 1994; Bolwell, 1995). В последующем это приводило к окислительному взрыву – одному из наиболее ранних компонентов защитных ответов растений на атаку патогена (Bindschedler et al., 2001). В реализации защитных ответов растений могут принимать участие и другие катионные, в частности, калиевые каналы, а косвенно в этот процесс также вовлекаются CNG-каналы. В культуре клеток моркови наблюдалось увеличение концентрации внутриклеточного K^+ под влиянием экзогенного цАМФ (Kurosaki, 1997). Автор предпо-

ложил, что вторичный мессенджер стимулировал открытие кальциевого CNG-канала, что приводило к активации соответствующего K^+ канала. К числу физиологических явлений, зависящих от активности CNG-каналов, относятся и регуляция роста пыльцевой трубки (Moutinho et al., 2001; Robinson, Messerli., 2002; Frietsch et al., 2007), и фототрансдукция фитохрома (Bowler et al., 1994). Кроме того, нуклеотид-открываемые каналы вместе с ауксином и цитокинином участвуют в работе транспирационного аппарата растительной клетки (Cousson, 2001).

Протеинкиназа А-подобные белки растений

На данный момент вопрос о присутствии протеинкиназы А (ПКА) или ПКА-подобных белков в растениях остается спорным. Ранее из проростков кукурузы был выделен фермент, обладающий, по мнению автора, свойствами цАМФ-зависимой протеинкиназы (Janistin, 1988). Этот электрофоретически очищенный белок с молекулярной массой 36 kD имел жесткую зависимость от $MnSO_4$; замена $MnSO_4$ на $NiSO_4$, $CoSO_4$, $FeSO_4$ снимала активацию протеинкиназы цАМФ. Позже цАМФ-стимулированная протеинкиназная активность была идентифицирована в корнях и листьях риса (Komatsu, Hirano, 1993). При концентрации 10 нМ цАМФ повышал фосфорилирование гистона H-2 и трех эндогенных белков с молекулярными массами 40, 50 и 55 kD проростков риса. цГМФ, форболовый эфир и Ca^{2+} такой эффект не индуцировали (Komatsu, Hirano, 1993). Из библиотек кДНК фасоли и риса были изолированы некоторые гены – кандидаты на серин/треониновые протеинкиназы. Оказалось, что участки у таких генов (PVRK-1 из боба фасоли и G11A из риса) имели высокую гомологию с каталитическими субъединицами протеинкиназы А и протеинкиназы С других организмов (Lawton et al., 1989). Таким образом, появились веские основания считать, что в высших растениях присутствуют нуклеотид-зависимые протеинкиназы (Newton et al., 1999). Результаты, полученные Румянцевой и соавт. (2010), также подтверждают высказанное предположение. По их данным, экзогенный цАМФ напрямую или опосредованно может усиливать протеинкиназную активность в клетках растений.

Однако, есть и противоположное мнение. Bridges с соавторами на основании результатов Вестерн-блоттинга (арабидопсис), а также про-

веденного биоинформационного анализа баз данных по геномам арабидопсиса и риса в сопоставлении с базами данных по генам человека, животных и цианобактерий, кодирующих регулируемые циклическими нуклеотидами протеинкиназу, пришли к выводу, что у растений подобный фермент отсутствует (Bridges et al., 2005). Тем не менее, допускается, что растительные протеинкиназы могут обладать субстратной специфичностью, отличающейся от таковой киназ животных и других представителей живых организмов, и это отражает весьма слабую гомологию между рассматриваемыми ферментами (Martinez-Atienza et al., 2007). В качестве альтернативы предполагается, что присутствующие в растениях нуклеотид-регулируемые Ca^{2+} -каналы могут выполнять функцию механизма, конвертирующего цАМФ-зависимые сигналы в кальциевые сигналы, тем самым обеспечивая обходной путь, не требующий участия нуклеотид-зависимой протеинкиназы (Martinez-Atienza et al., 2007).

Взаимодействие аденилатциклазной сигнальной системы с другими путями трансдукции сигналов у растений

В настоящее время вопрос создания комплексной модели информационной сети растительной клетки, начиная от восприятия сигнала на клеточной стенке и плазмалемме и заканчивая индукцией сигнальных систем в отдельных органеллах, очень актуален. Имеются немногочисленные сведения о том, что компоненты одних сигнальных систем могут модулировать (активировать или ингибировать) активность других. Рассматривая активность какого-либо компонента одного из сигнальных путей, необходимо учитывать этот факт (Тарчевский, 2001).

В то же время, в литературе это явление почти не обсуждается; имеются лишь отдельные данные о пересечении некоторых сигнальных путей растений (Колупаев, 2007; Климов, 2008). Поскольку в данном обзоре речь, в основном, идет об одном пути, то и в этом разделе акцентируем на нем внимание. Так, показано, что аденилатциклазная сигнальная система может влиять на MAP-киназную и кальциевую, в связи с тем, что цАМФ или цАМФ-зависимая протеинкиназа ингибирует активацию киназы киназы MAP-киназы и активирует или инактивирует Ca^{2+} -систему (Ludwig et al., 2005). Посредники кальциевой сигнальной системы также воздействуют на аденилатциклазу, в том

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА РАСТЕНИЙ

числе с участием кальмодулина (Cho et al., 1998).

Что касается органелл клеток растений, то эта тема является совершенно не разработанной, хотя очевидно, что «сигнальный статус» клетки складывается из работы отдельных сигнальных компартментов. Наши исследования, проведенные на вакуолях красной столовой свеклы (неопубликованные данные), показали, что ионы кальция в концентрации от 1 мкМ до 10 мМ весьма незначительно понижали концентрацию цАМФ в «тяжелых» вакуолях, но существенно повышали его уровень во фракции «легких» вакуолей. Пероксид водорода в микромолярных концентрациях снижал содержание цАМФ в обеих фракциях в одинаковой степени. Это также указывает на то, что внутриклеточные компартменты являются не только хранителями компонентов сигнальных систем, но и активно участвуют в трансдукции и преобразовании внутриклеточных сигналов.

Заключение

Как видно из представленных данных, аденилатциклазная сигнальная система растений и на сегодняшний день остается одной из наименее изученных у растений. В то же время за последние годы достигнут значительный прогресс в ее исследовании и можно надеяться, что развитие методологической базы позволит в ближайшем будущем заполнить «белые пятна» в изучении структурных особенностей и функционировании данного сигнального каскада у растений. Нам представляется, что наряду с исследованием отдельных компонентов трансдукционного пути, в том числе с использованием биоинформационного анализа, на первый план выходит проблема исследования взаимодействия сигнальных систем растений. Расшифровка механизмов и закономерностей, связанных с этим явлением, позволит вплотную подойти к вопросу регуляции генной экспрессии у растений.

ЛИТЕРАТУРА

Выскребенцева Э.И., Иванов Г.Г. Аденилатциклаза корнеплода сахарной свеклы: локализация и некоторые свойства // ДАН СССР. – 1981. – Т. 258, вып. 6. – С. 1515-1517.

Драговоз И.В., Яворская В.К., Мельничук Ю.П. Идентификация фосфодиэстеразы цАМФ, чувствительной к ионам Ca^{2+} и кальмодулину, и ее возможная роль во взаимодействии аденилатциклазной сигнальной системы с фитогормонами

// Биополимеры и клетка. – 1997. – Т. 13, № 2. – С. 116-120.

- Зинченко В.П., Долгачева Л.П. Внутриклеточная сигнализация. – Пушино, 2003. – 84 с.
- Ивашкин В.Т., Васильев В.Ю., Северин Е.С. Уровни регуляции функциональной активности органов и тканей. – Л.: Наука, 1987. – 272 с.
- Игуменов В.Л., Этингер Р.Н. Фосфодиэстераза циклических нуклеотидов из проростков пшеницы. Очистка, свойства, влияния системных фунгицидов // Биохимия. – 1980. – Т. 45, вып. 10. – С. 1797-1802.
- Каримова Ф.Г., Леонова С.А., Гордон Л.Х., Фильченкова В.И. Секретия цАМФ клетками растений // Физиология и биохимия культ. растений. – 1993. – Т. 25, № 4. – С. 362-367.
- Каримова Ф.Г., Тарчевская О.И., Леонова С.А., Жуков С.Н. Влияние фитогормонов на содержание цАМФ в растениях // Физиология и биохимия культ. растений. – 1990. – Т. 22, № 6. – С. 532-536.
- Каримова Ф.Г., Тырыкина Е.В., Захарова О.Ю. цАМФ-зависимое фосфорилирование белков гороха, индуцированное форсколином // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 1. – С. 27-35.
- Климов С.В. Адаптация растений к стрессам через изменение донорно-акцепторных отношений на разных уровнях структурной организации // Успехи соврем. биологии. – 2008. – Т. 128, № 3. – С. 281-299.
- Колупаев Ю.Е. Кальций и стрессовые реакции растений // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2007. – Вип. 1 (10). – С. 24-41.
- Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Криволапова Н.В. и др. Возможная роль эндогенного цАМФ картофеля в развитии системного сигнала при патогенезе кольцевой гнили // Докл. АН [Россия]. – 2004. – Т. 394, № 5. – С. 715-717.
- Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Филинова Н.В. Аденилатциклазы и устойчивость растений к стрессам. – Иркутск, 2010. – 87 с.
- Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Филинова Н.В. Участие цАМФ клеток картофеля в передаче системного сигнала при патогенезе кольцевой гнили // Физиология и биохимия культ. растений. – 2005. – Т. 37, № 2. – С. 126-131.
- Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Филинова Н.В. Функционирование «растворимой» и связанной с мембраной форм аденилатциклазы в органеллах растительных клеток при биотическом стрессе // Биол. мембраны. – 2007. – Т. 24, № 5. – С. 363-371.
- Орлов С.Н., Максимова Н.В. Выброс клетками циклического аденозинмонофосфата: механизм и

- физиологическое значение // Биохимия. –1999. – Т. 64, вып. 2. – С. 164-173.
- Осипенкова О.В.* Роль ретроградных пластидных сигналов в экспрессии ядерных генов стрессовых белков ELIP1 и ELIP2 у *Arabidopsis thaliana*: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – М., 2009. – 26 с.
- Погульская Е.Н.* Роль пластидных сигналов в регуляции экспрессии ядерных генов стрессовых белков ELIP и HSP32 у проростков ячменя: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – М., 2006. – 24 с.
- Румянцева Н.И., Акулов А.Н., Федина Е.О. и др.* Фосфорилирование белков в культивируемых клетках гречихи с разной морфогенной способностью // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, № 1. – С. 50-56.
- Семенов В.В., Каримова Ф.Г., Сабирова Л.Р., Леонова С.А.* Предсинтетический период клеточного цикла. Уровень эндогенного цАМФ, интенсивность репарации мутагенеза // Цитология и генетика. – 1993. – № 1. – С. 28-32.
- Тарчевский И.А.* Метаболизм растений при стрессе. – Казань: Фэн, 2001. – 448 с.
- Феденко Е.П., Иванова М.А., Доман Н.Г.* Аденилатциклаза и фитохром // Докл. АН [Россия]. – 1983. – Т. 269, № 5. – С. 1267-1268.
- Феденко Е.П., Касумов К.К., Доман Н.Г.* Фосфодиэстераза циклического АМФ и фитохром // Известия РАН. Серия Биологическая. – 1988. – № 5. – С. 740-744.
- Феденко Е.П., Кокишарова Т.А., Агамалова С.Р., Беляева Е.В.* Влияние яровизации и освещения проростков мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. красным светом на ход температурной кривой фосфодиэстеразы цАМФ // Известия РАН. Серия Биологическая. – 2004. – № 3. – С. 294-298.
- Шафикова Т.Н., Романенко А.С., Боровский Г.Б.* Рецепторы плазмалеммы клеток картофеля к экзополисахаридам возбудителя кольцевой гнили // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 2. – С. 246-250.
- Шпаков А.О.* Структурно-функциональная организация аденилатциклаз одноклеточных эукариот // Цитология. – 2007. – Т. 49, № 2. – С. 91-106.
- Шпаков А.О.* Хемосигнальные системы растений // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 9. – С. 721-734.
- Юрина Н.П., Одинцова М.С.* Пластидные сигналы и их роль в экспрессии ядерных генов // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 4. – С. 485-498.
- Юрина Н.П., Одинцова М.С.* Сигнальные системы митохондрий. Ретроградная регуляция // Физиология растений. – 2008. – Т. 44, № 11. – С. 1445-1452.
- Яворская В.К.* Физиологическая роль 3',5'-цАМФ в растительных клетках // Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – К., 1990. – 35 с.
- Яворская В.К., Калинин Ф.Л.* О функционировании цАМФ-регулирующей системы в растениях // Физиология и биохимия культ. растений. – 1984. – Т. 16, № 3. – С. 217-229.
- Abel S., Nurnberger T., Ahnert V. et al.* Induction of an extracellular cyclic nucleotide phosphodiesterase as an accessory ribonucleolytic activity during phosphate starvation of cultured tomato cells // Plant Physiol. – 2000. – V. 122. – P. 543-552.
- Ali R., Ma W., Lemtiri-Chlieh F. et al.* Death don't have no mercy and neither does calcium: Arabidopsis cyclic nucleotide gated channel and innate immunity // Plant Cell. – 2007. – V. 19. – P. 1081-1095.
- Arazi T., Sinkar R., Kaplan B., Fromm H.* A Tobacco plasma membrane calmodulin-binding transporter confers Ni²⁺ tolerance and Pb²⁺ hypersensitivity in transgenic plants // Plant J. –1999. – V. 20. – P. 171-182.
- Baker D.A., Kelly J.M.* Structure, function and evolution of microbial adenylyl and guanylyl cyclases // Mol. Microbiol. – 2004. – V. 52. – P. 1229-1242.
- Bevensee M.O., Schmitt B.M., Choi I. et al.* An electrogenic Na-HCO₃⁻ cotransporter (NBC) with a novel COOH-terminus, cloned from rat brain // J. Physiol. Cell Physiol. – 2000. – V. 278. – P. 1200-1211.
- Bhalta S.C., Chopra R.N.* Subcellular localization of adenylyl cyclase in the shoot apices of *Bryum argenteum* Hedw. // Ann. Bot. – 1984. – V. 54. – P. 195-200.
- Bindschedler L.V., Minibaeva F., Gardner S.L. et al.* Early signaling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca²⁺ // New Phytologist. – 2001. – V. 150. – P. 1-10.
- Bolwell G.P.* Cyclic AMP, the reluctant messenger in plants // TIBS. – 1995. – V. 20. – P. 492-495.
- Bowler C., Neuhaus G., Yamagata H., Chua N.H.* Cyclic GMP and calcium mediate phytochrome photo-transduction // Cell. – 1994. – V. 77. – P. 73-81.
- Bradley J., Zhang Y., Bakin R. et al.* Functional expression of the heteromeric "olfactory" cyclic nucleotide-gated channel in the hippocampus: A potential effector of synaptic plasticity in brain neurons // J. Neurosci. – 1997. – V. 17. – P. 1993-2005.
- Bridges D., Fraser M.E., Moorhead G.B.G.* Cyclic nucleotide binding proteins in the *Arabidopsis thaliana*

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА РАСТЕНИЙ

- and *Oryza sativa* genomes // BMC Bioinformatics. – 2005. – V. 6. – P. 1-12.
- Brown E.G., Al-Najafi T., Newton R.P. Cyclic nucleotide phosphodiesterase activity in *Phaseolus vulgaris* // Phytochemistry. – 1977. – V. 16. – P. 1333-1337.
- Brown E.G., Newton R.P. Occurrence of adenosine 3':5'-cyclic monophosphate in plant tissues // TIBS. – 1973. – V. 12. – P. 2683-2685.
- Brown E.G., Newton R.P., Smith C.I. A cyclic AMP binding-protein from barley seedlings // Phytochemistry. – 1980. – V. 19. – P. 2263-2267.
- Buck J., Sinclair M.L., Schapal L. et al. Cytosolic adenylyl cyclase defines a unique signaling molecule in mammals // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1999. – V. 96. – P. 79-84.
- Butow R.A., Avadhani N.G. Mitochondrial signaling: retrograde response // Molecular Cell. – 2004. – V. 14. – P. 1-15.
- Cali J.J., Zwaagstra J.C., Mons N. et al. Type VIII adenylyl cyclase. A Ca²⁺ / calmodulin-stimulated enzyme expressed in discrete regions of rat brain. // J. Biol. Chem. – 1994. – V. 269. – P. 12190-12195.
- Carricarte V.C., Bianchin G.M., Muschiatti J.P. Adenylate cyclase activity in a higher plant, alfalfa (*Medicago sativa*) // Biochem. J. – 1988. – V. 249. – P. 807-811.
- Chaloupka J.A., Bullock S.A., Iourgenko V. et al. Auto-inhibitory regulation of soluble adenylyl cyclase // Mol. Reprod. Dev. – 2005. – V. 73. – P. 361-368.
- Chen J., Iyengar R. Inhibition of cloned adenylyl cyclases by mutant-activated Gi- α and specific suppression of type 2 adenylyl cyclase inhibition by phorbol ester treatment // J. Biol. Chem. – 1993. – V. 268. – P. 12253-12256.
- Chin K., Moeder W., Yoshioka K. Biological roles of cyclic-nucleotide-gated ion channels in plants: what we know and don't know about this 20 member ion channel family // Botany. – 2009. – V. 87. – P. 668-677.
- Cho M.J., Vaghy P.L., Kondo R. et al. Reciprocal regulation of mammalian nitric oxide synthase and calcineurin by plant calmodulin isoforms // Biochemistry. – 1998. – V. 37. – P. 15593-15597.
- Choi E.J., Xia Z., Storm D.R. Stimulation of the type 3 olfactory adenylyl cyclase by calcium and calmodulin // Biochemistry. – 1992. – V. 31. – P. 6492-6498.
- Colledge M., Scott J.D. AKAPs: from structure to function // Trends Cell Biol. – 1999. – V. 9. – P. 216-221.
- Cooke C.J., Smith C.J., Walton T.J., Newton R.P. Evidence that cyclic AMP is involved in the hypersensitive response of *Medicago sativa* to a fungal elicitor // Phytochemistry. – 1994. – V. 35. – P. 889-894.
- Cousson A. Pharmacological evidence for the implication of both cyclic GMP-dependent and -independent transduction pathways within auxin-induced stomatal opening in *Commelina communis* (L.) // Plant Sci. – 2001. – V. 161. – P. 249-258.
- Curvetto N., Darjania L., Delmastro S. Effect of two cAMP analogues on stomatal opening in *Vicia faba*: relationship with cytosolic calcium concentration // Plant Physiol. Biochem. – 1994. – V. 32. – P. 365-372.
- Danchin A. Phylogeny of adenylyl cyclases // Adv. Second Messenger Phosphoprotein Res. – 1993. – V. 27. – P. 109-162.
- Defer N., Best-Belpomme M., Hanoune J. Tissue specificity and physiological relevance of various isoforms of adenylyl cyclase // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2000. – V. 279. – P. 400-416.
- Dessauer C.W., Scully T.T., Gilman A.G. Interactions of forskolin and ATP with the cytosolic domains of mammalian adenylyl cyclase // J. Biol. Chem. – 1999. – V. 272. – P. 22272-22277.
- Fehr T.F., Dickinson E.S., Goldman S.J., Slakey L.L. Cyclic AMP efflux is regulated by occupancy of the adenosine receptor in pig aortic smooth muscle cells // J. Biol. Chem. – 1990. – V. 265. – P. 10970-10980.
- Feng Q., Zhong Y., Li Y. et al. Two domains are critical for the nuclear localization of soluble adenylyl cyclase // Biochimie. – 2006. – V. 88. – P. 319-328.
- Fernandez A.P., Strand A. Retrograde signaling and plant stress: plastid signals initiate cellular stress responses // Curr. Opin. Plant Biol. – 2008. – V. 11. – P. 509-513.
- Frietsch S., Wang Y.F., Sladek C. et al. A cyclic nucleotide-gated channel is essential for polarized tip growth of pollen // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2007. – V. 104. – P. 14531-14536.
- Gasumov K.G., Shichijo C., Bayramov S.M., Hashimoto T. Membrane and soluble fractions of adenylyl cyclase from *Sorghum bicolor* seedlings positively react to the action of red and far red lights // Fest Conference on Photochemistry and Photobiology. – 1997. <http://www.photobiology.com/v1/contrib.htm>
- Gehring C. Adenyl cyclases and cAMP in plant signaling – past and present // Cell Commun. Signal. – 2010. – V. 8. – P. 1-15.
- Gookin T.E., Assman S.M. Whole proteome identification of plant candidate G-protein coupled receptors in Arabidopsis, rice, and poplar: computational prediction and in-vivo protein coupling // Gen. Biol. – 2008. – V. 9. – P. 312-316.
- Gu C., Cooper D.M. Calmodulin-binding sites on adenylyl cyclase type VIII. // J. Biol. Chem. – 1999. – V. 274. – P. 8012-8021.

- Gu C., Sorkin A., Cooper D.M.* Persistent interactions between the two transmembrane clusters dictate the targeting and functional assembly of adenylyl cyclase. // *Curr. Biol.* – 2001. – V. 11. – P. 185-190.
- Hanoune J., Pouille Y., Tzavara E. et al.* Adenylyl cyclases: structure, regulation, and function in an enzyme superfamily // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 1997. – V. 128. – P. 179-194.
- Hill C.S., Triesman R.* Transcriptional regulation by extracellular signals: mechanism and specificity // *Cell.* – 1995. – V. 80. – P. 199-212.
- Ishikawa I., Homcy C.* The adenylyl cyclases as integrators of transmembrane signal transduction // *Circ. Res.* – 1997. – V. 80. – P. 297-304.
- Iwami G., Kawabe J., Ebina T. et al.* Regulation of adenylyl cyclase by protein kinase A // *J. Biol. Chem.* – 1995. – V. 270. – P. 12481-12484.
- Janistin B.* Stimulation by manganese (II) sulphate of a cAMP-dependent protein kinase from *Zea mays* seedlings // *Phytochemistry.* – 1988. – V. 27. – P. 2735-2736.
- Jarvis P.* Intracellular signaling: chloroplast backchat // *Curr. Biol.* – 2007. – V. 17. – P. 552-555.
- Jiang J., Fan L.W., Wu W.H.* Evidence for involvement of endogenous cAMP in Arabidopsis defense responses to *Verticillium* toxins // *Cell Research.* – 2005. – V. 15. – P. 585-592.
- Jones A.M., Assman S.M.* Plant: the latest model system for G-protein research // *EMBO Reports.* – 2004. – V. 5. – P. 572-578.
- Kamenetsky M., Middelhaufe S., Bank E.M. et al.* Molecular details of cAMP generation in mammalian cells: a tale of two systems // *J. Mol. Biol.* – 2006. – V. 362. – P. 623-639.
- Kaplan B., Sherman T., Fromm H.* Cyclic nucleotide-gated channels in plants // *FEBS Lett.* – 2007. – V. 581. – P. 2237-2246.
- Katsushika S., Chen L., Kawabe J.I. et al.* Cloning and characterization of a sixth adenylyl cyclase isoforms: Types V and VI constitute a subgroup within the mammalian adenylyl cyclase family // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – V. 89. – P. 8774-8778.
- Kawakita K., Doko N.* Involvement of a GTP-binding protein in signal transduction in potato tubers treated with the fungal elicitor from *Phytophthora infestans* // *Plant Sci.* – 1994. – V. 96. – P. 81-86.
- Kohler C., Merkle T., Roby D., Neuhaus G.* Developmentally regulated expression of a cyclic nucleotide-gated ion channel from Arabidopsis indicates its involvement in programmed cell death // *Planta.* – 2001. – V. 213. – P. 327-332.
- Komatsu S., Hirano H.* Protein kinase activity and protein phosphorylation in rice (*Oryza sativa* L.) leaf // *Plant Sci.* – 1993. – V. 94. – P. 127-137.
- Koumura Y., Suzuki T., Yoshikawa S. et al.* The origin of photoactivated adenylyl cyclase (PAC), the *Euglena* blue-light receptor: phylogenetic analysis of orthologues of PAC subunits from several euglenoids and trypanosome-type adenylyl cyclases from *Euglena gracilis* // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2004. – V. 3. – P. 580-586.
- Kudlacek O., Mitterauer T., Nanoff C. et al.* Inhibition of adenylyl and guanylyl cyclase isoforms by the antiviral drug foscarnet // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V. 276. – P. 3010-3016.
- Kurosaki F.* Role of inward K⁺ channel located at carrot plasma membrane in signal cross-talking of cAMP with Ca²⁺ cascade // *FEBS Letts.* – 1997. – V. 408. – P. 115-119.
- Kurosaki F., Nishi A.* Stimulation of calcium influx and calcium cascade by cyclic AMP in cultured carrot cells // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1993. – V. 302. – P. 144-151.
- Lawton M.A., Yamamoto R.T., Hanks S.K., Lamb C.J.* Molecular cloning of plant transcripts encoding protein kinase homologs // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1989. – V. 86. – P. 3140-3144.
- Leng Q., Mercier R.W., Yao W., Berkowitz G.A.* Cloning and first functional characterization of plant cyclic nucleotide-gated cation channel // *Plant Physiol.* – 1999. – V. 151. – P. 753-761.
- Levin L.R., Reed R.R.* Identification of functional domains of adenylyl cyclase using in vivo chimeras // *J. Biol. Chem.* – 1995. – V. 270. – P. 7573-7579.
- Li W., Luan S., Schreiber S.L., Assman S.M.* Cyclic AMP stimulates K⁺ channel activity in mesophyll cells of *Vicia faba* L. // *Plant Physiol.* – 1994. – V. 106. – P. 957-961.
- Linder J.U.* Class III adenylyl cyclases: molecular mechanisms of catalysis and regulation // *Cell Mol. Life Sci.* – 2006. – V. 63. – P. 1736-1751.
- Linder J.U., Schultz J.E.* The class III adenylyl cyclases: multi-purpose signalling modules // *Cell Signal.* – 2003. – V. 15. – P. 1081-1089.
- Litvin T.N., Kamenetsky M., Zarifyan A. et al.* Kinetic properties of “soluble” adenylyl cyclase // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V. 278. – P. 15922-15926.
- Lomovatskaya L.A., Romanenko F.S., Filinova N.V., Dudareva L.V.* Determination of cAMP in plant cells by a modified enzyme immunoassay method // *Plant Cell Rep.* – 2011. – V. 30. – P. 125-132.
- Ludwig A.A., Saitoh H., Felix G. et al.* Ethylene-mediated cross-talk between calcium-dependent protein kinase and MAPK signaling controls stress re-

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА РАСТЕНИЙ

- sponses in plants // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2005. – V. 102. – P. 10736-10741.
- Lusini P., Trabalzini L., Franchi G.G. et al. Adenilate cyclase in roots of *Ricinus comuis*: stimulation by GTF and Mn²⁺ // Phytochem. –1990. – V. 30. – P. 109-111.
- Ma W., Smigel A., Verma R., Berkowitz G. Cyclic nucleotide gated channels and related signaling components in plant innate immunity // Plant Signal. Behav. – 2009a. – V. 4. – P. 277-282.
- Ma W., Qi Z., Smigel A. et al. Ca²⁺, cAMP, and transduction of non-self perception during plant immune responses // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009b. – V. 106. – P. 20995-21000.
- Maathuis F.J.M., Sanders D. Sodium uptake in *Ara-bidopsis* roots is regulated by cyclic nucleotides // Plant Physiol. – 2001. – V. 127. – P. 1617-1625.
- Martinez-Atienza J., Van Ingelgem C., Roef L., Maathuis F.J.M. Plant cyclic nucleotide signaling // Plant Signal. Behav. – 2007. – V. 2. – P. 540-543.
- Millner P.A. Heterotrimeric G-proteins in plant cell signaling // New Phytol. – 2001. – V. 151. – P. 165-174.
- Moutinho A., Hussey P.J., Trevawas A.J., Malho R. Cyclic AMP act as a second messenger in pollen tube growth and reorientation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – V. 98. – P. 10481-1048.
- Newton R., Roef L., Witters E., VanOncken H. Cyclic nucleotides in higher plants: the enduring paradox // New Phytol. – 1999. – V. 143. – P. 427-455.
- Newton R.P., Gibbs N., Moyse C.D. et al. Mass spectrometric identification of adenosine 3':5'-cyclic monophosphate isolated from a higher plant tissue // Phytochemistry. –1980. – V. 19. – P. 1909-1911.
- Niles R.M., Mount M.S. Cyclic nucleotide phosphodiesterase from carrot // Phytochemistry. – 1974. – V.13. – P. 2733-2740.
- Onda T., Hashimoto Y., Nagai M. et al. Type-specific regulation of adenylyl cyclase: Selective pharmacological stimulation and inhibition of adenylyl cyclase isoforms // J. Biol. Chem. – 2001. – V. 276. – P. 47775-47785.
- Pastor-Soler N., Beaulieu V., Litvin T.N. et al. Bicarbonate-regulated adenylyl cyclase (sAC) is a sensor that regulates pH-dependent V-ATPase recycling // J. Biol.Chem. – 2003. – V. 278. – P. 49523-49529.
- Pitzschke A., Schikora A., Hirt H. MAPK cascade signalling networks in plant defence // Curr. Opin. Plant Biol. – 2009. – V. 12. – P. 421-426.
- Pogson B.J., Woo N.S., Forster B., Small I.D. Plastid signaling to the nucleus and beyond // Trends Plant Sci. – 2008 – V. 13. – P. 602-609.
- Premont R., Matsuoka I., Mattei M.G. et al. Identification and characterization of a novel and widely-expressed isoform of adenylyl cyclase // J. Biol. Chem. – 1996. – V. 271. – P. 13900-13907.
- Qiao J., Mei F.C., Popov V.L. et al. Cell cycle-dependent subcellular localization of exchange factor directly activated by cAMP // J. Biol. Chem. . – 2002. – V. 277. – P. 26581-26586.
- Reddy R., Smith D., Wayman G. et al. Voltage-sensitive adenylyl cyclase activity in cultured neurons // J. Biol. Chem. – 1995. – V. 270. – P. 14340-14346.
- Rhoads D.M., Subbaiah C.C. Mitochondrial retrograde regulation in plants // Mitochondrion. – 2007. – V. 7. – P. 177-194.
- Robinson K.R., Messerli M.A. Pulsating ion fluxes and growth at the pollen tube tip // Sci. STKE. – 2002. – V. 2002. – P. 51.
- Roelofs J., Van Haastert J.M. Dedusing the origin of soluble adenylyl cyclase, a gene lost in multiple lineages // Mol. Biol. Evol. – 2002. – V. 19. – P. 2239-2246.
- Romanenko A.S., Lomovatskaya L.A., Shafikova T.N. et al. Potato cell membrane receptors to ring rot pathogen extracellular polysaccharides // J. Phytopathology. – 2003. – V. 151. – P. 1-6.
- Sharaf M.A., Rooney D.W. Changes in cyclic nucleotide levels correlated with growth, division and morphology in *Clamidomonas chemocian* culture // Biochem. Biophys. Res. Commun. –1982. – V.104. – P. 1461.
- Shoshani I., Laux W.H.G., Perigaud C. et al. Inhibition of adenylyl cyclase by acyclic nucleoside phosphonate antiviral agents // J. Biol. Chem. – 1999. – V. 274. – P. 34742-34744.
- Sim W.S., Kim H.R. Effect of GA₃ on the cyclic AMP biosynthesis in maize seedling // Plant Cell Physiol. – 1987. – V. 28. – P. 415-420.
- Simonds W.F. G protein regulation of adenylate cyclase // Trends Plant Sci. – 1999. – V. 20. – P. 66.
- Sismeiro O., Trotot P., Biville F. et al. *Aeromonas hydrophila* adenylyl cyclase 2: a new class of adenylyl cyclases with thermophilic properties and sequence similarities to proteins from hyperthermophilic archaeobacteria // J. Bacteriol. – 1998. – V. 180. – P. 3339-3344.
- Steegborn C., Litvin T.N., Levin L.R. et al. Bicarbonate activation of adenylyl cyclase via promotion of catalytic active site closure and metal recruitment // Nat. Struct. Mol. Biol. – 2005. – V. 12. – P. 32-37.
- Sunahara R., Taussig R. Isoforms of mammalian adenylyl cyclase: multiplicities of signaling // Mol. Intervent. – 2002. – V. 2. – P. 168-184.

- Sutherland E.W., Rall T.W., Mennon T.* Adenyl cyclase: distribution, preparation and properties // *J. Biol. Chem.* – 1962. – V. 247. – P. 1220-1227.
- Talke I.N., Blaudez D., Maathuis F.J.M., Sanders D.* CNGCs: prime targets of plant cyclic nucleotide signaling // *Trends Plant Sci.* – 2003. – V. 8. – P. 286-293.
- Tang W.J., Gilman A.G.* Type-specific regulation of adenylyl cyclase by G protein subunits // *Science.* – 1991. – V. 254. – P. 1500-1503.
- Tesmer J.J., Sunahara R.K., Johnson R.A. et al.* Two-metal-ion catalysis in adenylyl cyclase // *Science.* – 1999. – V. 285. – P. 756-760.
- Truelsen T.A., Wyndaele R.* Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate in normal and habituated *Helianthus callus* // *Physiol. Plant.* – 1978. – V. 42. – P. 324-380.
- Trusov Y., Rookes J., Tilbrook K. et al.* Heterotrimeric G protein subunits provide functional selectivity in G β dimer signaling in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* – 2007. – V. 19. – P. 1235-1250.
- Tsuruhara A., Tesuka T.* Relationship between self-incompatibility and cAMP level in *Lidium Longyflorum* // *Plant Cell Physiol.* – 2002. – V. 42. – P. 1234-1238.
- Tu J.C.* Biochemical and histochemical investigation of diurnal variation in cAMP concentration and adenylate cyclase activity in white dutch clover // *Protoplasma.* – 1979. – V. 99. – P. 139-146.
- Tuteja N.* Signaling through G protein coupled receptors // *Plant Signal. Behav.* – 2009. – V. 4. – P. 942-947.
- Van Onckelen H.A., Dupon M., Greef J.H.* High-performance liquid chromatographic identification and quantitation of cyclic adenosine 3':5'-monophosphate in higher (*Phaseolus vulgaris* L.) and lower (*Clorella sp.*) plants // *Physiol. Plant.* – 1982. – V. 55. – P. 93-97.
- Volotovski D., Sokolovsky S.G., Molchan O.V., Knight M.R.* Second messengers mediate increases in cytosolic calcium in tobacco protoplasts // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 117. – P. 1023-1030.
- Ward J.M., Schroeder J.I.* Roles of ion channels in initiation of signal transduction in higher plants // *Plant Cell.* – 1995. – V. 7. – P. 833-844.
- Willoughby D., Cooper D.M.F.* Ca²⁺ stimulation of adenylyl cyclase generates dynamic oscillations in cyclic AMP // *J. Cell Science.* – 2006. – V. 119. – P. 826-836.
- Witters E., Quanten L., Bloemen J. et al.* Product identification and adenylyl cyclase activity in chloroplasts of *Nicotiana tabacum* // *Rapid Commun. Mass Spectrometry.* – 2004. – V. 18. – P. 499-504.
- Witters E., Valcke R, Van Onckelen H.* Cytoenzymological analysis of adenylyl cyclase activity and 3':5'-cAMP immunolocalization in chloroplasts of *Nicotiana tabacum* // *New Phytol.* – 2005. – V. 168. – P. 709-712.
- Wong S.K., Ma C.P., Foster D.C. et al.* The guanylyl cyclase – a receptor transduces an atrial natriuretic peptide/ATP activation signal in the absence of other proteins // *J. Biol. Chem.* – 1995. – V. 270. – P. 30818-30822.
- Wuttke M.S., Buck J., Levin L.R.* Bicarbonat-regulated soluble adenylyl cyclase // *JOP. J. Pancreas.* – 2001. – V. 2. – P. 154-158.
- Yahr T.L., Vallis A.J., Hancock M.K. et al.* ExoY, an adenylate cyclase secreted by the *Pseudomonas aeruginosa* type III system // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – V. 95. – P. 13899-13904.
- Yan S.Z., Huang Z.H., Andrews R.K., Tang W.J.* Conversion of forskolin-insensitive to forskolin-sensitive (mouse-type IX) adenylyl cyclase // *Mol. Pharmacol.* – 1998. – V. 53. – P. 182-187.
- Zhu H., Li G.J., Ding L. et al.* *Arabidopsis* extra large G-protein 2 (XLG2) interacts with the G β subunit of heterotrimeric G protein and functions in disease resistance // *Mol. Plant.* – 2009 – V. 2. – P. 513-525.
- Zimmermann S., Ehrhardt T., Plesch G., Muller-Rober.* Ion channels in plant signaling // *Cell. Mol. Life Sci.* – 1999. – V. 55. – P. 183-203.
- Zippin J.H., Chen Y., Nahirney P. et al.* Compartmentalization of bicarbonate-sensitive adenylyl cyclase in distinct signaling microdomains // *FASEB J.* – 2003. – V. 17. – P. 82-84.
- Zippin J.H., Levin, L.R., Buck J.* CO₂/HCO₃⁻ responsive soluble adenylyl cyclase as a putative metabolic sensor // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2001. – V. 12. – P. 366-370.
- Amrhein N.* The current status of cyclic AMP in higher plants // *Annu. Rev. Plant Physiol.* – 1977. – V. 28. – P. 123-132.

Поступила в редакцию
28.02.2011 г.

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА РАСТЕНИЙ

PLANT ADENYLATE CYCLASE SIGNAL SYSTEM

L. A. Lomovatska, A. S. Romanenko, N. V. Filinova, O. V. Rikun

*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry
Siberian Division of Russian Academy of Science
(Irkutsk, Russia)*

The review presents literary information and our data on functioning of adenylate cyclase signal system in plants. There are drawn numerous proofs of cAMP participation in plant reactions to diverse stress impacts. Along with that, it is stated that not all the elements of this transduction path have been studied in equal degree of detail by now. In particular, structure of plant adenylate cyclase has not been defined; presence of proteinkinase A, with the properties analogous to that in animal cells, remains questionable.

Key words: *cAMP, membranebinding adenylate cyclase, soluble adenylate cyclase, phosphodiesterase cAMP, ion channels, stress*

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНА СИГНАЛЬНА СИСТЕМА РОСЛИН

Л. А. Ломоватська, А. С. Романенко, Н. В. Філінова, О. В. Рикун

*Сибірський інститут фізіології і біохімії рослин
Сибірського відділення Російської академії наук
(Іркутськ, Росія)*

У огляді представлені літературні і власні дані щодо функціонування аденілатциклазної сигнальної системи у рослин. Наводяться численні докази участі цАМФ в реакціях рослин на різні стресові впливи. Разом з цим наголошується, що нині не всі елементи даного трансдукційного шляху вивчені однаково детально. Зокрема, не з'ясована структура аденілатциклаз рослин, залишається дискусійним питання про присутність протеїнкінази А, аналогічної за властивостями такій в клітинах тварин.

Ключові слова: *цАМФ, мембранозв'язана аденілатциклаза, розчинна аденілатциклаза, фосфодіестераза цАМФ, іонні канали, стреси*