

УДК 581.1

РОЛЬ ЦИТОСКЕЛЕТА В СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМАХ РАСТЕНИЙ

Л.П. Хохлова, Ю.Ю. Невмержицкая

Аннотация

В обзоре проведен анализ данных литературы и результатов собственных исследований об участии цитоскелета в сигнальных системах клеток растений. Основные компоненты цитоскелета – тубулиновые микротрубочки и актиновые микрофиламенты – обладают ярко выраженной динамической нестабильностью, постоянно находясь в состоянии сборки/разборки, изменяют свое структурное и полимерное состояние, локализацию, ориентацию, состав изотипов, контакты между собой и клеточными структурами. Именно эта реорганизация цитоскелета, происходящая под влиянием внешних и внутренних факторов, и определяет его сигнальные функции. Цитоскелет-зависимый сигналинг включает целую иерархию последовательных биохимических и физиологических изменений, влияющих на форму клеток и органов, микроструктуру тканей, деление, полярность, дифференцировку, различные типы подвижности клеток, а также эндо-, экзоцитоз и везикулярный транспорт веществ. Рассматриваются новые данные о возможности участия цитоскелета в межклеточных коммуникациях через «синапсоподобные» контакты.

Ключевые слова: растения, цитоскелет, динамическая нестабильность, сигналы, трансдукция, клеточный ответ.

Введение

Известно, что цитоскелет растительных клеток состоит из тубулиновых микротрубочек (МТ) и актиновых микрофиламентов (МФ). МТ представляют собой длинные почти прямые полые цилиндры, стенки которых содержат 13 протофиламентов, состоящих из глобулярных гетеродимеров, образованных α - и β -тубулиновыми субъединицами. МТ – исключительно лабильные образования, легко полимеризуются и деполимеризуются за счет пула всегда присутствующих в клетке тубулинов [1].

МФ имеют одинаковое строение в клетках всех эукариот. Они образованы закрученными друг относительно друга тяжами, состоящими из повторяющихся субъединиц, каждая из которых включает 13 глобулярных молекул актина. Актин существует в клетке в виде свободного белка – мономера, называемого G-актином, в полимерной форме в виде полярных нитей, самосборка которых на плюс-конце идет быстрее, чем на минус-конце, и в форме разнообразных супрамолекулярных структур [2].

Как с МТ, так и МФ ассоциированы специфические нетубулиновые и неактиновые белки: MAPs (микротрубочко-ассоциированные белки) и ABPs (актин-связанные белки) [3]. Они осуществляют регуляцию сборки и разборки соот-

ветствующих элементов цитоскелета, связывают их друг с другом, обеспечивая их стабильность, распределение в клетке и специфику функционирования.

Основные цитоскелетные структуры – МТ и МФ – образуют некий структурный остов, с которым могут взаимодействовать различные клеточные компоненты: белки и их комплексы, ферменты, липиды, различные везикулы, мембраны, органеллы и др. Цитоскелету отводится важная роль в поддержании архитектуры клетки, в пространственно-временной организации и координации клеточного метаболизма, сохранении структурно-функциональной целостности живых клеток при экстремальных воздействиях [4–6]. Многочисленными исследованиями показано, что кортикальные МТ, как правило, располагаются перпендикулярно к основному направлению растяжения клеток и параллельно вновь синтезируемым фибриллам целлюлозы клеточной стенки. Актиновые МФ располагаются параллельно МТ, тесно связаны с ними и влияют на скорость реориентации МТ. Изменение ориентации МТ происходит под влиянием различных факторов: фитогормонов, света, температуры, механических и электрических воздействий, гравитации, поранения, поражения патогенами [7].

Итогом длительной эволюции является формирование механизмов рецепции и трансдукции внешних сигналов. Эти механизмы позволяют растениям адаптироваться к условиям окружающей среды. Имеющиеся к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что цитоскелет участвует в различных сигнальных системах и генетических программах клеток растений. Сигнальная функция цитоскелета определяется высокой лабильностью его основных структурных компонентов – тубулиновых МТ, актиновых МФ и ассоциированных с ними белков [8].

Вызванная различными сигналами перестройка цитоскелетной сети может приводить к существенным изменениям множества клеточных процессов: внутриклеточной подвижности макромолекул и органелл, везикулярного транспорта веществ, эндо- и экзоцитоза, гликолиза, синтеза белков, рецепторных и транспортных свойств мембран и др. В свою очередь, эти изменения, контролируя субклеточную организацию и координацию клеточного метаболизма, а также межклеточные взаимодействия, определяют формирование клеток и органов, микроструктуру тканей, полярность всех стадий клеточного роста и в конечном итоге влияют на процессы роста и морфогенеза растений [9].

Взаимодействие цитоскелета с интермедиатами сигнальных систем

В процессе эволюции у клеток выработались приспособления, позволяющие воспринимать (рецепция), передавать, преобразовывать (трансдукция) внешние сигналы и через генетический аппарат реагировать на них. Звенья сигнальных систем в клетках животных и растений во многом унифицированы. В настоящее время интенсивно исследуются MAP-киназная, аденилатциклазная, фосфатидатная, кальциевая, липоксигеназная, НАДФ-оксидазная, NO-синтазная и протонная сигнальные системы в клетках растений [10].

Элементы цитоскелета взаимодействуют с интермедиатами и вторичными посредниками различных сигнальных систем. Так, если сборка актиновых сетей активируется ионами кальция, то процесс разборки контролируется полифосфоинозитидами [11]. Как показали исследования [12–14], актин, ассоциированный

с плазмалеммой, вовлекается в фосфоинозитольный сигнальный путь. Установлено, что с кортикальными МТ и плазмалеммой ассоциирована фосфолипаза Д [15]. Игибиторы фосфатидной кислоты нарушают структуру МТ и ингибируют анизотропное растяжение проростков *Arabidopsis* [16]. Это означает, что фосфатидная кислота, являющаяся частью сигнального каскада фосфоинозотида, вовлечена в процессы сборки/разборки МТ и МФ.

Важную роль в регуляции организации актинового цитоскелета в клетках растений играют малые ГТФазы, которые представляют собой особый класс Rop ГТФаз [8, 9, 15]. Малые ГТФазы обнаружены у многих двудольных и однодольных растений [4]. Предполагается, что малые ГТФазы контролируют полярный рост различных типов клеток с помощью направленной сборки/разборки МФ, о чем свидетельствует изучение мутантных форм *Arabidopsis* [9, 17, 18]. Rop ГТФазы осуществляют этот контроль с помощью фосфатидилинозитолмонофосфаткиназы, с которой они ассоциированы [18]. В клетках животных в качестве эффекторов Rop ГТФаз выступают так называемые RIC-белки (Rop-interacting CRIB motif-containing proteins). В настоящее время в клетках *Arabidopsis* обнаружено семейство из 11 RIC-белков [19]. Кроме того, сигнал от Rop ГТФаз на актиновый цитоскелет передается с помощью киназ, инозитолфосфатов, ионов кальция [16]. Ли с соавторами [23] установлено, что в растущих апикально клетках концентрация Ca^{2+} резко увеличивается в направлении к вытягивающемуся кончику. Возникающий градиент Ca^{2+} необходим как для активации малых ГТФаз, так и для разборки МФ и образования необходимого для полимеризации под влиянием других факторов G-актина [15].

Одной из многочисленных мишеней действия малых ГТФаз у животных организмов является Arp2/3 (Actin-related proteins) комплекс, осуществляющий полимеризацию и ветвление нитей актина. В настоящее время в растениях обнаружены как гены всех 7 белков Arp2/3-комплекса [24], так и сам Arp2/3-комплекс [20]. По-видимому, этот комплекс участвует в морфогенезе растений. Об этом свидетельствуют полученные мутанты *Arabidopsis* по разным компонентам Arp2/3-комплекса с нарушенной морфологией клеток из-за искаженной направленности растяжения и сильной агрегацией МФ [21, 22, 24]. Передача сигнала от малых ГТФаз на Arp2/3-комплекс у животных происходит с участием белков семейства WASP (Wiskott-Aldrich Syndrome Protein), которые связывают комплекс и мономерный актин, помогая его полимеризации. У арабидопсиса были найдены подобные белки [16, 24], не отличающиеся большой гомологией с таковыми белками животных.

Еще один фактор нуклеации актина – пролинобогатенные белки формины. Формины I класса содержат N-концевой сигнальный пептид, с помощью которого они заякориваются в мембране, и область, имеющую сходство с экстенсином клеточных стенок, которая позволяет взаимодействовать с клеточной стенкой. Предполагается, что формины участвуют в передаче внешних стимулов на актиновый цитоскелет [9, 25]. Некоторые формины участвуют в полимеризации МТ [9].

В динамических перестройках актинового цитоскелета участвуют MAP-киназы (митоген-активируемые протеинкиназы). Исследования растительных MAP-киназ [29] показали, что высокие температуры активируют НАМ-киназу через повышение текучести мембран, а низкие – SAM-киназу через увеличение

жесткости мембран. Эти процессы сопровождаются реорганизацией актинового цитоскелета. При этом кратковременная разборка МФ в ответ на действие низких температур является сигналом, запускающим развитие адаптационных процессов [28]. Обработка клеток люцерны стабилизаторами МФ и МТ – жасплатинолидом и таксолом – блокировала активацию MAP-киназ температурным шоком, тогда как ингибиторы цитоскелета – латрункулин, цитохалазин Д и оризалин – активировали SAMK и НАМК при 25 °С. Вызванная модификаторами цитоскелета активация изучаемых киназ ингибировалась хелаторами Ca^{2+} и блокаторами кальциевых каналов. Таким образом, изменения текучести мембран, разборка цитоскелета и повышение концентрации цитозольного Ca^{2+} необходимы для активации MAP-киназ.

Мишенями для каскадов киназ или Ca^{2+} -зависимых путей передачи сигналов являются актинсвязывающие (ABPs) и ассоциированные с микротрубочками (MAPs) белки. Известно, что в полярно растущих клетках наблюдается неравномерное распределение актинсвязывающих белков. Так, в кончиках корневых волосков и пыльцевых трубок происходит скопление профилина, актин-деполимеризующего фактора, анексинов и виллина [26, 27]. Показана функциональная связь между малыми ГТФазами и актин-деполимеризующим фактором в пыльцевых трубках табака [31]. Структурные перестройки клеточных фосфолипидов влияют на активность ряда актинсвязывающих белков, вызывая тем самым реорганизацию актинового цитоскелета [16].

В трансдукции сигналов и функционировании цитоскелетных систем существенную роль играет Ca^{2+} -связывающий белок – кальмодулин [10]. Известно несколько механизмов влияния кальций-кальмодулинового (Ca^{2+} /КаМ) комплекса на стабильность МТ. Ca^{2+} /КаМ может активно препятствовать связыванию МТ в тяжи, в результате МТ становятся неустойчивыми и легко деполимеризуются [34]. Кроме того, комплекс Ca^{2+} /КаМ способен дестабилизировать кортикальные МТ за счет нарушения их связи с плазматической мембраной [35]. Кальмодулин может влиять на структурную стабильность тубулиновых полимеров и как отдельная молекула [36]. Фишер с сотрудниками [37] установили, что кальмодулин взаимодействует с МТ в Ca^{2+} -чувствительных и Ca^{2+} -зависимых сайтах. При этом кальмодулин связывается с МТ при низких концентрациях Ca^{2+} , при повышении концентрации Ca^{2+} он диссоциирует с МТ, что приводит к дестабилизации последних. Ca^{2+} -чувствительные участки связывания кальмодулина необходимы для защиты МТ от дестабилизирующего действия кальмодулина на Ca^{2+} -зависимых сайтах. Показано, что Ca^{2+} /КаМ ингибирует связывание виллина – актинсвязывающего белка, участвующего в нуклеации актина с F-актином [7].

Участие цитоскелета в кальциевой и низкотемпературной сигнализации

Цитоскелет, плазмалемма и клеточная стенка образуют единый структурно-функциональный комплекс, все компоненты которого тесно взаимосвязаны между собой. Во многих растительных клетках найдены белки, способные «сшивать» элементы цитоскелета не только между собой, но и с мембранными структурами [39].

Взаимодействия между компонентами цитоскелета, плазмалеммой и белками клеточной стенки лежат в основе преобразования механических сил в биохими-

ческие сигналы и играют ключевую роль в восприятии и проведении внешнего сигнала в различные компартменты клетки путем создания динамической механической связи из компонентов цитоскелета [38]. Эта связь необходима и для формирования ответной реакции на внешний сигнал [39]. В литературе обсуждается вопрос о природе молекул, осуществляющих контакт между элементами цитоскелета и клеточной стенкой (рис. 1). Предполагается, что такими молекулами являются киназы, ассоциированные с клеточной стенкой (WAKs), арабиногалактановые белки (AGPs), пектины и целлюлозосинтетаза. Кроме вышеперечисленных соединений, взаимодействие между цитоскелетом и клеточной стенкой, вероятно, может осуществляться с помощью форминов, специфических растительных миозинов VIII, фосфолипазы Д и каллозосинтетазы [39]. Области сцепления цитоскелета, плазмалеммы и клеточной стенки являются механочувствительными и способны передавать изменения напряжения клеточной стенки на сигналтрандуцирующие молекулы, природа которых полностью не установлена [39, 45]. Недавние исследования [40] позволили установить, что взаимодействия между МТ, плазмалеммой и клеточной стенкой необходимы для ответа клетки на механический стресс. Обработка специфическим ингибитором полимеризации тубулиновых белков оризалином нарушала способность суспензионных клеток хризантемы, подвергнутых компрессии, восстанавливать ось растяжения [40].

Ионы Ca^{2+} , выполняющие функцию универсального вторичного мессенджера в клетках различных организмов, необходимы на всех этапах онтогенеза растений. Ca^{2+} контролирует такие процессы, как рост и дифференцировка, фотоморфогенез и эмбриогенез, реакции совместимости, грави- и фототропизм, циклоз, движение устьичных клеток, полярный рост клеток, процессы сборки и разборки компонентов цитоскелета и др. Кальций участвует в адаптации к различным стрессовым воздействиям, в том числе и к низким температурам [44, 46], и является основным элементом в трансдукции гормональных сигналов [41].

Основными элементами в системе кальциевой сигнализации растительной клетки являются различные типы Ca^{2+} -каналов, Ca^{2+} -АТФазы, $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -обменники, Ca^{2+} -связывающие белки, Ca^{2+} -регулируемые ионные каналы. К звеньям этой сигнальной системы относятся различные рецепторы и вторичные посредники, каскады амплификации Ca^{2+} -сигнала, различные протеинкиназы и протеинфосфатазы, Ca^{2+} -регулируемые ферменты и белки цитоскелета, факторы транскрипции и Ca^{2+} -регулируемые гены. Передача сигнала в клетку с помощью ионов Ca^{2+} осуществляется волновым способом. Именно Ca^{2+} -волны и Ca^{2+} -осцилляции, возникающие в ответ на раздражение в определенных участках клетки, являются основой кальциевой сигнализации [41].

Кальций оказывает разностороннее и неоднозначное действие на цитоскелет. Процессы сборки и разборки МТ и МФ, связывание их в пучки, взаимодействие с мембранами, сохранение целостности цитоскелетных структур и их функций определяются концентрацией кальция в цитозоле.

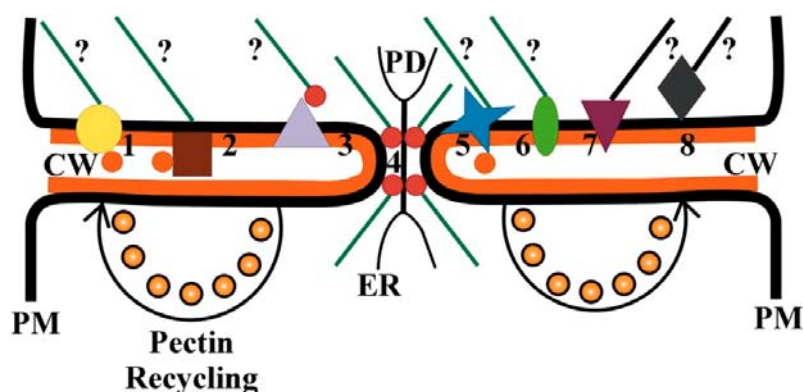


Рис. 1. Схема взаимодействий цитоскелета с клеточной стенкой: PD – плазмодесма, ER – ЭПР, CW – пектины, PM – плазмалемма, 1 – киназа клеточной стенки (WAK), 2 – арабиногалактановый белок (AGP), 3 – каллозосинтетаза, специфический для растений миозин класса VIII, 5 – другая рецепторная киназа, 6 – формин, 7 – целлюлозосинтетаза, 8 – фосфолипаза D, ? – гипотетические взаимодействия MT и MF с молекулами-связниками [39]

Наша работа [42] была посвящена выяснению цитоскелет-опосредованных механизмов трансдукции сигналов при закаливании растений к холоду. Для этого было изучено поведение MT как наиболее чувствительного к различным условиям среды компонента цитоскелета. С помощью методов непрямой иммунофлуоресцентной микроскопии при использовании моноклональных α -тубулиновых антител была проведена визуализация кортикальных MT в субэпидермальных клетках корней в зоне растяжения и начала дифференцировки. Динамическую нестабильность MT контролировали по их способности разбираться на фрагменты при действии на проростки морозного шока (-7°C , 2 ч). При этом было отмечено, что до закаливания чувствительность кортикальных MT к криострессу (-7°C , 2 ч) была выше у морозоустойчивых сортов, так как тубулиновые филаменты сильнее разрушались по сравнению с маломорозоустойчивым сортом. Быстрая, но кратковременная и частичная разборка пучков MT на короткие фрагменты наблюдалась в клетках морозоустойчивых растений также и в начале закаливания (3°C , 12 ч), которая усиливалась при действии морозного стресса и отсутствовала у морозочувствительного сорта. Через сутки после начала закаливания MT устойчивых сортов вновь собирались в пучки, сохраняя свое холодо-стабильное агрегированное состояние до конца закаливания (через 7 сут), в то время как у маломорозоустойчивых растений связывание MT в пучки не происходило, и они продолжали разбираться в ответ на морозный шок.

Отмеченная на начальных этапах закаливания высокая динамичность и лабильность MT выносливых сортов коррелировала с более быстрой скоростью восстановления физиологической адаптации и приобретения тканями корней более высокого уровня морозоустойчивости, о чем судили по динамике кривых роста в течение холодного закаливания и после замораживания. Развитие адаптационных процессов предотвращалось при ингибировании разборки MT таксоном, являющимся их стабилизатором. Напротив, антимиотический гербицид пронамид повышал устойчивость корней к замораживанию, индуцируя кратковременную и обратимую фрагментацию MT у маломорозоустойчивого сорта.

Следовательно, пронамид на неустойчивые растения действовал так же, как закаливание на устойчивые растения. Таким образом, искусственно индуцированная краткосрочная и обратимая разборка МТ в начале закаливания является предпосылкой для формирования в процессе продолжающейся адаптации холодостойкого тубулинового цитоскелета и повышения морозоустойчивости растений [42].

На завершающих этапах закаливания происходят изменения и в составе изо типов тубулина: в клетках морозоустойчивых сортов появление холодостабильных МТ сопровождалось заметным уменьшением в их составе изо типа TUBA2, тогда как содержание изо типа TUBA3 увеличивалось у маломорозоустойчивого сорта Безостая 1. Содержание тирозинированного α -тубулина в процессе закаливания одинаково увеличивалось в корнях всех трех сортов озимой пшеницы независимо от морозоустойчивости, но до закаливания была обнаружена прямая зависимость между его содержанием, способностью МТ к разборке и морозоустойчивостью сорта [42].

Полученные результаты позволили предположить, что МТ являются не только мишенью холодового стресса, но и участвуют в восприятии низких температур, при этом механизм действия МТ связан с модуляцией активности Ca^{2+} -каналов плазмалеммы [45]. Низкие температуры активируют Ca^{2+} -каналы плазмалеммы, усиливая тем самым поток Ca^{2+} в цитоплазму и запуская каскад киназ, что в конечном итоге приводит к синтезу белков низкотемпературного стресса – COR-белков [43]. Разборка МТ специфическим ингибитором оризалином подобна действию низких температур на Ca^{2+} -каналы, а подавление деполимеризации МТ таксомом останавливало активацию Ca^{2+} -каналов [47]. П. Ник [45] предполагает, что МТ выполняют функцию рецепторов Ca^{2+} -каналов, регулирующих их проницаемость. При нормальной температуре МТ ограничивают активность Ca^{2+} -каналов. Понижение температуры вызывает деструкцию МТ, что приводит к снижению давления МТ на плазмалемму, открыванию Ca^{2+} -каналов и поступлению Ca^{2+} внутрь клетки. Этот поток Ca^{2+} , в свою очередь, усиливает деполимеризацию МТ, что вновь увеличивает «время жизни» Ca^{2+} -каналов. Так осуществляется положительная обратная регуляция активности Ca^{2+} -каналов.

Вероятно, к этому процессу имеет непосредственное отношение и частичная деполимеризация микрофиламентов (или фрагментация их тяжей). Было показано, что в закаленных к холоду клетках пшеницы экспрессируется ген, кодирующий актин-деполимеризующий белок, подобный кофилину, и уровень этого белка был выше у устойчивых к морозу растений [48].

Принимая во внимание эти данные литературы, мы полагаем, что обнаруженная в нашей работе частичная и кратковременная деструкция кортикального тубулинового цитоскелета в начале закаливания у устойчивых к морозу растений усиливает поступление Ca^{2+} в цитоплазму, что должно способствовать более интенсивному включению и активному функционированию Ca^{2+} -зависимых сигнальных систем. Менее динамичные МТ неустойчивых к морозу сортов, вероятно, замедляют вход Ca^{2+} в цитоплазму и тем самым снижают скорость включения процессов холодовой адаптации.

Холодостабильность МТ зависит от их исходной динамичности, с одной стороны, и эффективности разборки тубулиновых филаментов, с другой. Динамичность МТ и скорость их разборки определяются степенью связывания

и активностью белков, ассоциированных с микротрубочками (MAPs). Так, включение Ca^{2+} -сигнальных путей может привести к активации MAPs (катенина), ответственных за разрушение пучков микротрубочек [12].

Таким образом, МТ (и, очевидно, МФ) могут действовать как эффекторы активируемых холодом Ca^{2+} -каналов плазмалеммы, ускоряя (у устойчивых растений) или замедляя (у неустойчивых) внутриклеточные потоки Ca^{2+} , что соответствующим образом будет влиять на включение пусковых адаптационных процессов с участием сигнальных систем, и в первую очередь Ca^{2+} -зависимых.

Цитоскелет-зависимые изменения структурной организации ретикулоплазминов при низкотемпературном и гормональном сигналинге

Важнейшими составляющими кальциевой сигнальной системы являются Ca^{2+} -связывающие белки. Эти белки подразделяются на белки-«сенсоры» и белки-«буферы». Взаимодействие Ca^{2+} -связывающих белков-сенсоров (кальмодулина, Ca^{2+} -зависимой протеинкиназы и др.) с ионами кальция вызывает активацию «исполнительных» механизмов клетки (ферментов, белков цитоскелета, факторов транскрипции, ионных каналов) путем обратимого фосфорилирования. К Ca^{2+} -связывающим белкам-сенсорам относятся ретикулоплазмины – бип (BiP) и калретикулин (Cal), принадлежащие к классу растворимых полифункциональных белков-маркеров эндоплазматического ретикула. Калретикулин – один из основных Ca^{2+} -связывающих полипептидов [49, 50], который активно регулирует потоки внутри- и межклеточного кальция [51, 52]. Этот ретикулоплазмин способен модулировать функцию Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикула [51], а также подавлять вход свободного Ca^{2+} в цитоплазму из внеклеточного пространства [52]. Калретикулин участвует в регуляции экспрессии генов [51, 53], является лектиноподобным шапероном, специфично связывающимся с моногликозилированными N-олигосахаридами [54] и контролирующим синтез, а также посттрансляционную модификацию белков [51]. В отличие от калретикулинов, BiP обладают ярко выраженными свойствами шаперонов [55, 56]. Эти ретикулоплазмины непосредственно взаимодействуют с растущими белковыми цепями, что стимулирует их АТФазную активность, регулируемую кальцием [55]. BiP способны связывать Ca^{2+} и контролировать пул этого катиона в цитоплазме.

Состав и внутриклеточное распределение BiP- и Cal-белков наиболее детально были изучены в клетках животного происхождения [49, 55, 57]. Для растительных организмов такого рода информация представлена лишь в единичных работах [50, 58].

Исходя из предпосылки о том, что реорганизация цитоскелета, индуцируемая холодовой закалкой или действием антицитоскелетных агентов, увеличивает уровень клеточного Ca^{2+} , мы исследовали влияние цитоскелета на ретикулоплазмины [59, 60]. Для этого с высоким разрешением была осуществлена их иммуноцитохимическая идентификация и визуализация с использованием поликлональных антител HSP70 и CRH к BiP- и Cal-белкам соответственно, а также исследован орган- и сортоспецифический состав BiP и Cal в клетках проростков озимой пшеницы при действии антимикротрубочкового препарата оризалина (листья – 15 мкМ, корни – 10 мкМ), холодового закаливания (3 °С, 7 сут) и абсцизовой

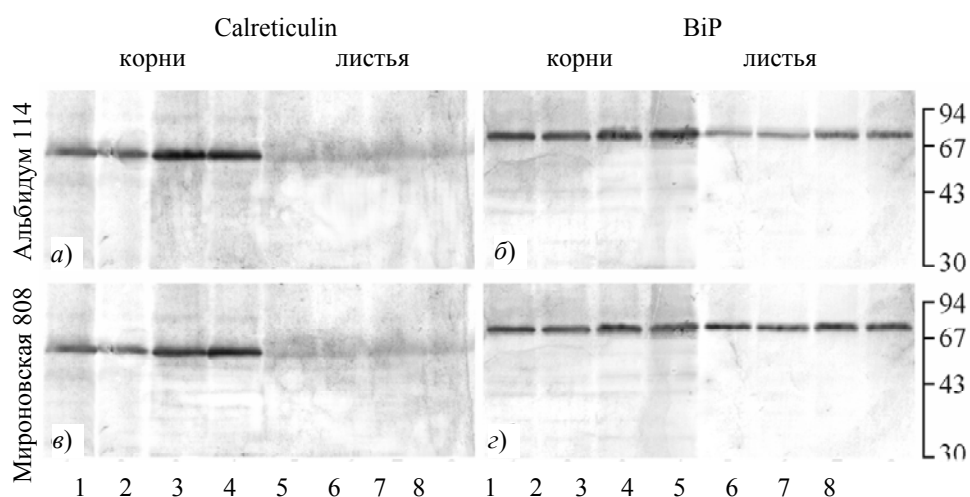


Рис. 2. Иммуноблоты Cal- и BiP-белков корней и листьев незакаленных (дорожки 1, 5), обработанных оризалином (дорожки 2, 6), закаленных к холоду (дорожки 3, 7), совместно закаленных к холоду и обработанных оризалином (дорожки 4,8) проростков Альбидум 114 (а, б) и Мироновской 808 (в, з). Справа указаны молекулярные массы маркерных белков в кД

кислоты (АБК) (30 мкМ). Было обнаружено более высокое содержание Cal-белков в корнях по сравнению с листьями (рис. 2), что можно расценивать как свидетельство большего вклада этих белков в регуляцию кальциевого баланса корней, чем листьев. Аналогичные сортоспецифичные различия в концентрации BiP обнаружены у высокоморозоустойчивого сорта (рис. 2), что позволило предположить существование более тесных взаимодействий между исследуемыми ретикулоплазматинами в клетках устойчивых к низким температурам растений по сравнению с неустойчивыми. Это может быть одной из причин развития быстрой ответной реакции холодоустойчивых сортов на изменяющиеся условия окружающей среды, в том числе и действие гипотермии.

Закаливание растений к холоду увеличивало (рис. 2), а обработка АБК уменьшала концентрацию Cal-белков в клетках корней (рис. 3, 4), но оба фактора повышали содержание BiP в этих органах (рис. 3, 4). Накопление калретикулиновых и BiP-белков в тканях закаленных к холоду растений может быть связано с увеличением шапероновой активности этих белков и/или с участием их в регуляции концентрации цитоплазматического кальция. Наблюдаемое в наших опытах уменьшение концентрации Cal-белков под влиянием АБК может способствовать аккумуляции Ca^{2+} в цитозоле и тем самым – активации адаптационных процессов. В работе [50] было отмечено повышение содержания мРНК калретикулинов в клетках табака после действия на них АБК. Обнаруженное нами гормон-индуцированное снижение концентрации калретикулинов в клетках корней, обработанных АБК, возможно является необходимым условием для активации экспрессии генов этих белков, осуществляемой по механизму обратной связи. Оризалин не изменял содержание ретикулоплазминов (рис. 2, 3).

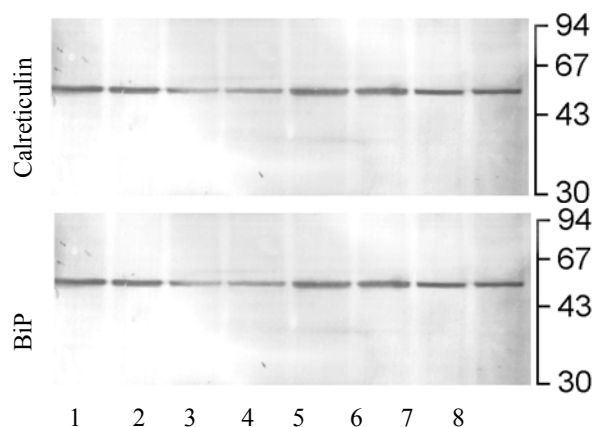


Рис. 3. Иммуноблоты Cal- и BiP-белков корней незакаленных (дорожка 1), обработанных оризалином (дорожка 2), АБК (дорожка 3), АБК и оризалином (дорожка 4), закаленных к холоду (дорожка 5), закаленных к холоду и обработанных оризалином (дорожка 6), закаленных к холоду и обработанных АБК (дорожка 7), закаленных к холоду, обработанных АБК и оризалином (дорожка 8) проростков Безостой 1. Справа указаны молекулярные массы маркерных белков в кД

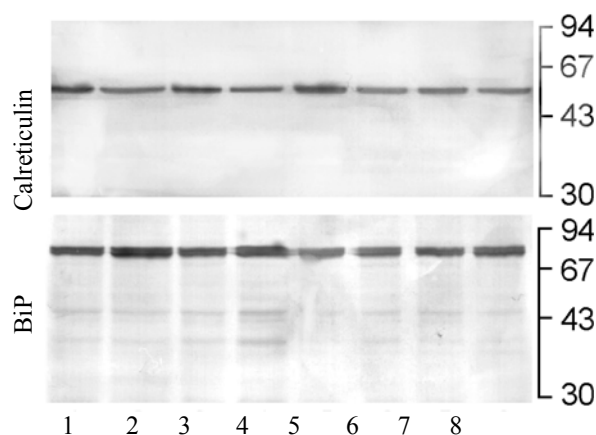


Рис. 4. Иммуноблоты Cal- и BiP-белков корней незакаленных (дорожки 1, 3), обработанных АБК (дорожки 2,4), закаленных к холоду (дорожки 5, 7), закаленных к холоду и обработанных АБК (дорожки 6, 8) проростков Альбидум 114 (дорожки 1, 2, 5, 6) и Мироновской 808 (дорожки 3, 4, 7, 8). Справа указаны молекулярные массы маркерных белков в кД

При исследовании иммунолокализации этих белков в клетках корней незакаленных растений выявлено равномерное распределение BiP и Cal в цитоплазме (рис. 5, а, б, а). Обработка растений оризалином и холодовое закаливание вызывали сходное перераспределение BiP и Cal: белки накапливались вблизи ядерной и плазматической мембран в виде двух сферических структур (рис. 5, б, в, б, б, в). Следовательно, на концентрацию Cal и BiP низкие температуры и оризалин оказывали разное действие (холод увеличивал, а оризалин не изменял), а на пространственную организацию – одинаковое действие (скопление в околосмембранных областях). Мы полагаем, что эти результаты являются отражением

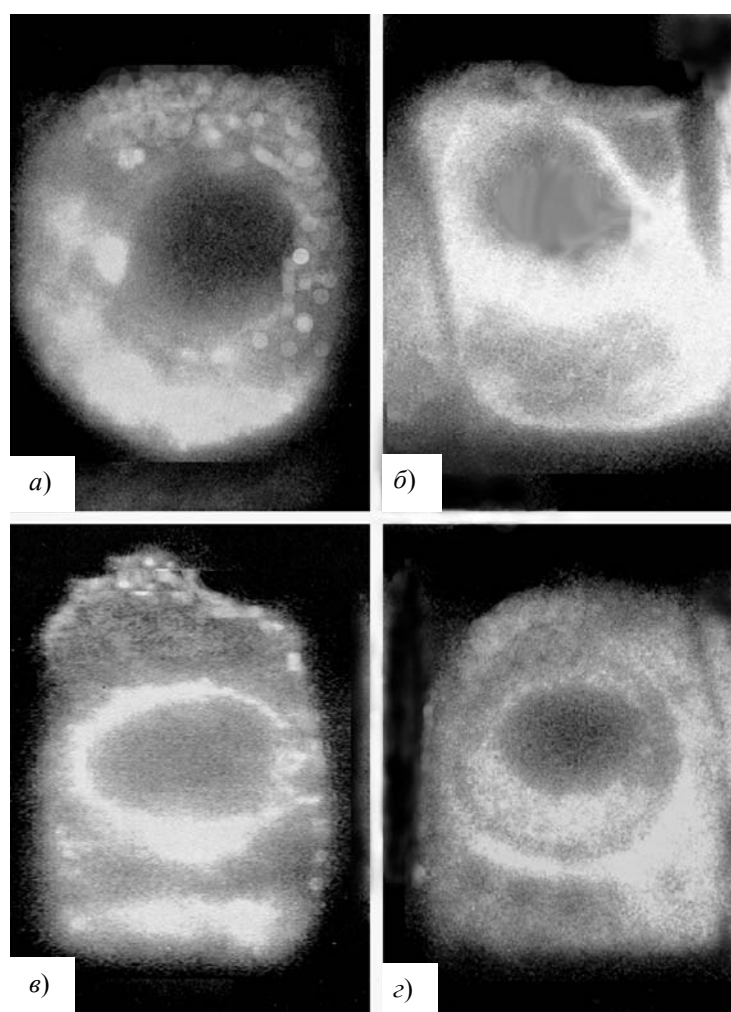


Рис. 5. Иммунофлуоресцентная визуализация ViP-белков в клетках корней незакаленных (а), закаленных к холоду (б), обработанных оризалином (в), совместно закаленных к холоду и обработанных оризалином (г) проростков Мироновской 808

различного влияния данных факторов на уровень клеточного Ca^{2+} . Низкие температуры, возможно, индуцируют в клетках корней возникновение более высокой концентрации Ca^{2+} , способствующей изменению экспрессии генов и дополнительному синтезу Ca^{2+} -связывающих белков. В противоположность этому в оризалин-обработанных клетках вследствие меньшего увеличения уровня катиона, по-видимому, новообразования Cal- и ViP-белков не происходит, а гомеостаз катиона может восстанавливаться за счет имеющихся в ЭПР форм ретикулоплазминов. Очевидно, именно для достижения этой цели в закаленных к холоду и обработанных оризалином клетках ViP- и Cal-белки перемещались к областям плазматической и ядерной мембран – зонам, вероятно, наиболее высокой аккумуляции Ca^{2+} . При условии, что этот процесс перераспределения белков происходил в пределах ЭПР, можно сделать вывод: низкие температуры и антимитотический агент оказывали значительное влияние на реорганизацию этой системы.

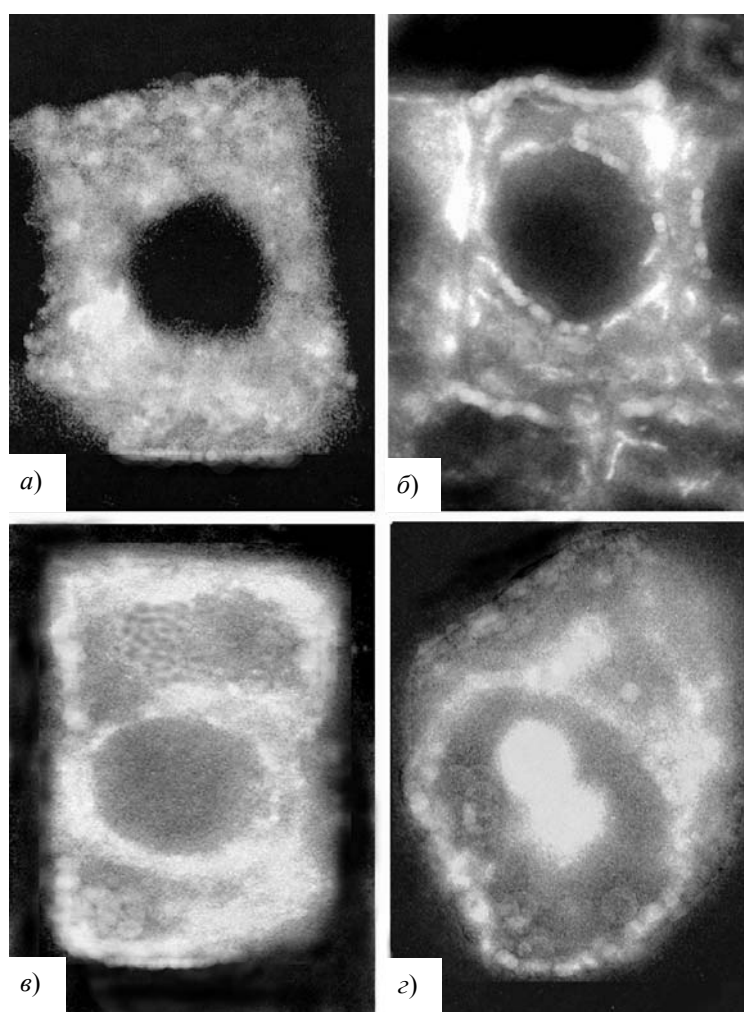


Рис. 6. Иммунофлуоресцентная визуализация СаI-белков в клетках корней незакаленных (а), закаленных к холоду (б), обработанных оризалином (в), совместно закаленных к холоду и обработанных оризалином (з) проростков Мироновской 808

При совместном действии холода и оризалина визуализировано скопление ViP-белков в форме двух правильных окружностей, одна из которых находилась в околоядерной области, а другая – в цитоплазме на некотором расстоянии от первой (рис. 5, з). Следовательно, в закаленных к холоду клетках оризалин способствовал перемещению ViP-ретикулоплазминов из кортикальной зоны клеток в эндоплазматическую в составе сети ЭПР либо вне ее. Такое перемещение в эндоплазму ViP-белков, необходимых для репарации поврежденных белковых комплексов, вызвано, очевидно, преимущественным разрушением микротрубочек именно в этой зоне по сравнению с кортикальной. В закаленных и обработанных оризалином тканях не было обнаружено сходного с ViP-полипептидами внутриклеточного перераспределения СаI-белков (рис. 6, з), что свидетельствует о более слабой шаперонной активности последних. При этом кальретикулиновые белки были обнаружены в нуклеоплазме ядер клеток пшеницы Мироновская 808. Это указывает на возможность их непосредственного участия как в регуля-

ции экспрессии генов, так и в защите аппарата транскрипции в условиях гипотермии. Полученные нами данные позволяют заключить о существовании взаимодействий между белками цитоскелета и ретикулопазминами, которые могут иметь значение для передачи внешних и внутренних сигналов на геном.

Цитоскелет и межклеточные коммуникации

Новые взгляды на межклеточный информационный обмен растений изложен в работе [61]. Исходя из фактов существования в растениях потенциалов действия и нейромедиаторов (к которым относятся широко известные вторичные метаболиты теин, кофеин, никотин, кокаин, морфин), авторы предложили нейробиологический подход к объяснению процессов коммуникаций в клетках растений.

По мнению авторов [61], растения содержат два типа противоположно расположенных мембранных доменов, похожих на нейронные и иммунологические синапсы животных. Синапсоподобные участки растительной клетки представляют собой адгезивные контакты и содержат большое количество сигнальных молекул [14], F-актин, миозин VIII класса и плазмодесмы, обеспечивающие электрическую связь между клетками [26]. Первый тип «синапсов» растений участвует в транспорте ауксина и определяет высокую пластичность роста и морфогенеза растений. Транспорт ауксина в растениях происходит полярно из побега в корень вдоль вектора гравитации и осуществляется с помощью белков-переносчиков семейства PIN, локализованных в плазматической мембране. Однако согласно экспериментальным данным ингибиторы транспорта ауксина одновременно останавливают везикулярный транспорт, тогда как ингибитор эндоцитоза брефельдин А прекращает перенос ауксина. Обнаружено, что у мутантов *Arabidopsis* по миозину XI с нарушенным везикулярным движением отсутствует транспорт ауксина. Эти факты свидетельствуют о том, что ауксин экспортируется из клеток везикулярным путем, а не переносится непосредственно через плазматическую мембрану. При этом белок PIN1 участвует в загрузке ауксина в везикулы и эндосомы. Такой способ транспорта ауксина представляет собой экзоцитоз нейромедиаторным способом [61].

Подобный взгляд на передачу информации в растительном организме позволяет дать несколько иное объяснение явлению гравитропизма. Эндоцитоз и циркуляция везикул зависят от механического напряжения на плазматической мембране, созданного силой тяжести. Верхняя мембрана «синапса» растений испытывает большее гравитационное давление, чем нижняя. Любое отклонение растения от вертикального положения будет изменять положение «синаптических доменов», что приведет к увеличению выделения ауксина в этом направлении [27, 62].

Второй тип «синапса» растений сходен с иммунологическим синапсом животных организмов, от него зависит способность растений вступать в симбиотические взаимоотношения с микроорганизмами и грибами и отражать атаки патогенов. Предполагается, что устойчивость растения к патогенам зависит от сохранения клетками растения-хозяина адгезивных доменов клеточной стенки и плазмалеммы на участках межклеточного взаимодействия [63]. При этом везикулы, содержащие H_2O_2 и, возможно, другие сигнальные молекулы, скапливаются на участках атаки патогенов. Эти индуцированные патогенами «синапсы» – участки

поляризованной мембраны – содержат области плотного F-актина и аппарат везикулярного транспорта [63]. В этом случае функцию сигнальных молекул выполняют пектины, обладающие противоположными ауксину свойствами и использующие с ауксином одни и те же пути передвижения в «синапсах» растений.

Кроме того, растения используют и другие переносчики и рецепторы в процессах межклеточной коммуникации, которые характерны и для нейронов: глутамат и его ионотропные рецепторы, глицин, γ -аминомасляную кислоту (GABA), ацетилхолин и АТФ. Было показано, что глутамат и глицин открывают Ca^{2+} -проницаемые каналы в растениях и вызывают деполяризацию плазмалеммы. Глутамат может быть альтернативой ауксину как переносчику возбуждения в растениях, а GABA ингибирует возбуждение подобно нейронам. Установлено, что GABA быстро продуцируется растениями при стрессе и может транспортироваться от клетки к клетке по тканям растений [61].

Как известно, синапсы формируют информационную основу целостности многоклеточных организмов. Межклеточная коммуникация в растениях осуществляется с помощью эволюционно древних молекул, к которым относится ауксин. Этот факт вместе с предполагаемым существованием в растениях синапсоподобных межклеточных контактов является, по-видимому, основой для зарождения нового направления – нейробиологии растений.

Цитоскелетный контроль внутриклеточной подвижности: моторные белки

Несмотря на то что растения неподвижны, внутри их клеток происходит постоянное перемещение органелл, макромолекул, хромосом и т. д. Трансдукция сигналов и адекватный ответ клетки на изменяющиеся условия окружающей среды зависят от различных типов внутриклеточной подвижности. Во всех внутриклеточных движениях цитоскелет играет центральную роль. Актиновые и тубулиновые филаменты цитоскелета выполняют следующие функции в процессах внутриклеточного движения: 1) служат рельсами для движения молекулярных моторов с их специфическим грузом или, наоборот, препятствуют движению; 2) являются генератором движущей силы, возникающей за счет процессов полимеризации/деполимеризации фибрилл. В растительных клетках эти процессы зависят в большей степени от актиновых филаментов, чем от МТ, хотя оба компонента цитоскелета обычно функционируют совместно [64, 65].

В механизмах внутриклеточного движения участвуют моторные белки трех типов: миозины, кинезины и динеины. Все цитоскелетные молекулярные моторы являются АТФазами, которые используют энергию гидролиза АТФ для движения вдоль актиновых микрофиламентов (миозин) или микротрубочек (кинезин и динеин) и переносят специфические грузы (карга) к местам их назначения. При этом процесс движения напоминает движение автодрезины по рельсам, где горячим служит АТФ, мотором – цитоскелетные моторные белки, рельсами – МТ или МФ [30, 64]. Моторные белки также могут выполнять и некоторые другие функции, например поддерживать структуру клетки или участвовать в передаче сигналов [64].

Поскольку главную роль во внутриклеточных передвижениях у растений играют МФ, то основными моторными белками растительной клетки являются

миозины, обеспечивающие многие виды движений вдоль актиновых филаментов. В настоящее время считается, что растения обладают двумя специфическими классами миозинов: миозины VIII и миозины XI. Все миозины передвигаются (кроме миозина VI) по направлению к плюс-концам полярных МФ [66]. Каждый из классов миозина представлен множественными изоформами, проявляющими органспецифичную экспрессию, что свидетельствует о разнообразии их функций. Так, было показано участие миозинов животных в передаче внутриклеточных сигналов. При этом выполняемые миозинами функции определяют их локализацию [32, 66].

Движение по МТ происходит с участием других моторных белков – кинезинов и динеинов. Строение молекул кинезинов определяет направление их передвижения: к плюс-концу или к минус-концу МТ. У арабидопсиса обнаружен 61 ген кинезинов, 2 из которых кодируют белки, движущиеся к минус-концам МТ [33, 67]. Кинезины растений обладают высокой степенью гомологии с кинезинами животных. Кинезины выполняют разнообразные функции в клетке: участвуют в формировании популяции МТ веретена деления и регулировании их полярности, в организации цитоскелета, в прикреплении МТ к хромосомам и др. [68–74].

Множественность функций кинезинов определяет разнообразие их локализации. Показано, что кинезиноподобный белок FRA1, влияющий на ориентацию фибрилл целлюлозы в цветоносах арабидопсиса, был локализован только на периферии цитоплазмы [71]. В интерфазных клетках растущих и созревающих волокон хлопчатника кальмодулинсвязывающий кинезин (GhКСВР) был локализован с кортикальными МТ, в реорганизации которых он, по-видимому, принимает участие, тогда как в делящихся клетках меристемы корня этот белок взаимодействует с препрофазным тельцем, ядром, веретеном и фрагмопластом [69].

Что касается еще одного типа моторных белков – динеинов, то их существование в растениях является дискуссионным. Эти белки участвуют в перемещениях по МТ у низших растений. По-видимому, динеин характерен только для организмов, у которых жгутики и реснички присутствуют хотя бы на одной стадии их развития [72].

В настоящее время исследователям довольно мало известно о взаимодействии цитоскелетных моторов с переносимым грузом. Имеются сведения о переносе моторными белками мРНК, макромолекулярных комплексов, везикул и органелл. Наиболее изученным является транспорт мРНК [63]. Этот процесс сопряжен с образованием сложных РНК-белковых комплексов, в состав которых входят моторные белки (иногда разных типов), трансфакторы, адаптерные белки, ингибиторы преждевременной трансляции мРНК и компоненты белоксинтезирующих комплексов (рибосомы, факторы белкового синтеза и т. д.). Присутствие в таких гранулах одновременно нескольких моторных белков обеспечивает возможность пересадки мРНК с одних компонентов цитоскелета на другие. В клетках растений путями для перемещения мРНК обычно служат МФ. Моторные белки взаимодействуют с мРНК с помощью одного или нескольких адаптерных белков [64].

С помощью актинового цитоскелета происходит транспорт везикул аппарата Гольджи к быстро растущим клеткам при апикальном росте, интернализация

переносчиков, определяющая полярный транспорт гормона, а также процессы эндоцитоза. Секреторные пузырьки Гольджи, несущие строительный материал для срединной пластинки при цитокинезе, передвигаются по МТ фрагмопласта с помощью кинезинов [66]. Взаимодействие моторов с везикулами происходит через посредство адаптерных белков, которые мало исследованы у растений. Кроме того, движущей силой для перемещения эндосом в клетках животных и грибов может служить полимеризация актина, инициируемая Agr2/3-комплексом [15]. Для растений подобных данных пока нет.

В транспорте органелл обычно принимают участие и МТ, и МФ, но активный цитоскелет играет более важную роль по сравнению с МТ. Органеллы движутся вдоль пучков актина, состоящих из МФ с одинаковой ориентацией полюсов. Но есть сведения, согласно которым органеллы, изолированные из пыльцевых трубок табака, перемещаются *in vitro* вдоль МТ, полимеризованных из тубулина мозга быка, по-видимому, приводимые в движение кинезином [73].

Изучение движения органелл с помощью флуоресцентной технологии и световой микроскопии, а также маркерных белков органелл, слитых с GFP (зеленый флуоресцирующий белок – green fluorescent protein), позволило изменить представление о движении органелл [74]. Если раньше считали, что органеллы перемещаются пассивно с током цитоплазмы, то в настоящее время показано, что распределение органелл в разных участках цитоплазмы далеко не беспорядочно. Разные органеллы могут двигаться с неодинаковой скоростью, что, возможно, зависит от вовлечения в этот процесс миозинов, специфических для каждого класса органелл, и от передвижения в разных направлениях.

В работе [75] исследовали индивидуальные органеллы в протопластах табака с помощью белков, меченых GFP, и специфических для МТ и МФ ядов. Авторы наблюдали индивидуальное поведение каждого типа органелл (различия в скорости движения и в зависимости от МТ или МФ), причем наибольшая скорость движения была характерна для митохондрий. Актиновые МФ участвовали в перемещении органелл в протопластах и их последующем распределении между дочерними клетками. Миграция хлоропластов, пероксисом, ЭР и везикул аппарата Гольджи зависит от состояния актомиозиновой системы, тогда как расположение неподвижных митохондрий в кортикальном слое и перемещение ядра зависят как от МФ, так и от МТ [63].

Вовлечение в цитоскелета в трансдукцию гормональных стимулов

Существует точка зрения о том, что взаимодействие цитоскелета и фитогормонов – важное звено фундаментального механизма, с помощью которого фитогормоны регулируют рост и развитие растений.

Многие сигнальные ответы сопровождаются изменением в уровне эндогенных гормонов и могут быть заменены добавлением экзогенных гормонов. Фитогормоны являются хорошо изученными триггерами переориентации цитоскелетных структур. Ауксин вызывает поперечную ориентацию микротрубочек в побегах и колеоптилях и некоторую деполимеризацию актиновых микрофиламентов [80]. Наоборот, в корнях, где ауксины ингибируют элонгацию, формируются сообщества продольных микротрубочек [77]. Гиббереллины, стимулирующие удлинение корней и побегов, способствуют поперечной ориентации

тубулинового цитоскелета [78]. При этом действие гиббереллина на переориентацию микротрубочек связано с протеинкиназными каскадами, что свидетельствует о взаимодействии различных сигнальных цепей с цитоскелетом. Цитокинины подавляют элонгацию, индуцируют утолщение стебля и приводят к продольному расположению микротрубочек [79] и увеличивают жесткость микрофиламентов [80]. Такой же эффект характерен для этилена [81]. Экзогенная АБК замедляет ростовую активность корней и повышает морозоустойчивость растений, что сопровождается появлением в клетках зоны растяжения наклонно ориентированных холодостойких рядов кортикальных МТ [76, 82]. Механизм изменения ориентации МТ может быть связан с их поворотами и избирательной стабилизацией. В процессах изменения ориентации МТ, предположительно, участвуют белки, ассоциированные с МТ (MAPs) [83]. При этом остается неизвестным, измененное расположение компонентов цитоскелета является причиной или следствием гормон-индуцированного изменения направления роста. По-видимому, эти явления не связаны прямой причинной связью.

В настоящее время есть все основания считать, что цитоскелет-опосредованная гормональная регуляция ростовых и формообразовательных процессов клеток осуществляется по двум направлениям: через изменение пространственной структурной организации основных цитоскелетных структур МФ и МТ (одно направление) и через изменение экспрессии генов и синтеза актина и тубулинов и ассоциированных с ними белков MAPs и ABPs (второе направление).

Сложная цепь взаимодействий в системе фитогормоны – цитоскелет – растение требует детальных и системных исследований. Мы занимались изучением этого вопроса на примере АБК. Известно, что в основе универсального физиологического эффекта этого гормона как индуктора устойчивости растений к целому ряду стрессорных факторов лежит торможение ростовой функции. Согласно биометрическим измерениям [84] АБК уменьшала длину корней проростков озимой пшеницы, то есть ингибировала их линейный рост. Это укорочение корней снижалось под действием высокоспецифического блокатора полимеризации тубулиновых белков растительных клеток – оризалина, что указывает на участие цитоскелета в АБК-индуцированном торможении ростовых процессов.

В наших работах при использовании непрямой иммунофлуоресцентной микроскопии и вестерн-блот анализа были выявлены разные механизмы действия низких закаливающих температур и экзогенной АБК на основные параметры физико-химического состояния: МТ- и МФ-ориентацию, локализацию, способность к сборке и разборке, агрегацию, стабильность, а также содержание тубулиновых и актиновых белков в клетках разных органов (колеоптили, листья, разные зоны корня) у контрастных по морозоустойчивости сортов озимой пшеницы [85–88]. Показано, что АБК вызывала уменьшение содержания цитоскелетных и фосфорилированных белков с молекулярной массой 60 кДа, способствуя снижению массы МТ и появлению менее разветвленной сети слабо флуоресцирующих тубулиновых компонентов в клетках зоны дифференцировки корней – более всего ответственной за развитие морозоустойчивости пшеницы. Ингибирующее действие гормона на актиновый цитоскелет проявлялось в клетках всех исследованных зон корня, особенно в области дифференцировки.

Закаливание проростков к холоду (3 °С, 7 сут) не изменяло уровень тубулиновых и актиновых белков, однако способствовало усилению пространственной агрегации МТ, приводя к образованию плотной сети тубулинового цитоскелета из толстых пучков интенсивно флуоресцирующих МТ. При совместном действии исследуемых факторов низкие температуры нивелировали описанный выше эффект гормона, вызывая увеличение содержания цитоскелетных и фосфорилированных белков с молекулярной массой 60 кДа, а также МТ-структур. В связи с этим авторы полагают, что АБК-индуцированное уменьшение уровня белков и МТ происходит на начальных этапах закаливания растений к холоду (3 °С, 2–3 сут) и является сигналом, запускающим развитие процессов адаптации к низким температурам. По мере увеличения продолжительности закаливания (3 °С, 7 сут) роль АБК в формировании устойчивости растений к холоду ослабевает, и в клетках, по-видимому, начинают функционировать другие, независимые от гормона механизмы развития морозоустойчивости, в которых возрастает значение цитоскелетных компонентов и ассоциированных с ними белков [85–88].

Эти результаты об устранении низкими температурами деструктивного влияния АБК на тубулиновый и актиновый цитоскелет поддаются логичному объяснению. При холодной акклимации в клетках озимой пшеницы АБК больше накапливается в первые 2–3 дня, когда проявляется сигнальная функция фитогормона и запускаются АБК-зависимые процессы. На завершающих этапах закаливания (через 5–7 дней) содержание АБК существенно снижается [93], поэтому ее роль ослабевает, и начинают действовать АБК-независимые механизмы развития морозоустойчивости растений, одним из которых является наблюдаемое восстановление структурной организации цитоскелета в закаленных клетках.

Полученные экспериментальные данные и литературные сведения позволили представить возможную последовательность процессов, разворачивающихся при гормональном сигналинге. Развивается представление о том, что действие АБК на растительные клетки связано с Ca^{2+} -сигнальной системой, так как Ca^{2+} является основным медиатором влияния АБК на различные физиологические процессы. По-видимому, АБК, связываясь с рецепторами плазмаллемы и модифицируя Рор ГТФазы растительных клеток, запускает каскад реакций, открывающих Ca^{2+} -каналы в плазмалемме и во внутриклеточных депо, что сопровождается увеличением концентрации цитозольного Ca^{2+} . Возникающий градиент Ca^{2+} (Ca^{2+} -вспышка) включает в работу Ca^{2+} -зависимые киназные и фосфатазные системы, которые, в свою очередь, через фосфорилирование/дефосфорилирование основных эффекторов МТ и МФ – ассоциированных с ними белков MAPs и ABPs – вызывают частичную деструкцию цитоскелета в разных зонах корня. Следует сказать, что помимо Ca^{2+} -пути в передаче сигнала от Рор ГТФаз на актиновый цитоскелет могут участвовать специфические RIC-белки и Agr 2/3-комплекс [15, 16].

Обнаруженная нами в АБК-обработанных клетках деполимеризация МФ в зонах меристемы и элонгации может привести к разборке кортикальной F-актиновой сети и трансвакуолярных цитоплазматических тяжей МФ и, как следствие, к замедлению циклозиса, транспорта секреторных везикул со строительным материалом к точкам роста, а также процессов экзо- и эндоцитоза, что может ингибировать элонгацию растительных клеток.

Реорганизация цитоскелета в зоне дифференцировки, где происходит формирование ксилемных элементов, может привести к изменению водного обмена, и в частности к снижению активности осмосенсора, представляющего собой комплекс аквапоринов с актином, и значит, к замедлению поступления воды в клетки. Кроме того, мы полагаем, что деструкция цитоскелета, вызванная действием АБК, может выполнять роль сенсбилизатора, повышая чувствительность или компетентность клеток, а конкретно, плазмалеммы к АБК, по типу обратной положительной связи.

Необходимо отметить, что любая дезорганизация кортикального цитоскелета, который тесно связан структурно и функционально с плазмалеммой, приведет к изменению ее физических свойств. В результате перестройки надмолекулярной организации МТ и МФ может произойти ослабление их взаимодействий с плазмалеммой, то есть нарушение цитоскелетмембранного комплекса. Вслед за этим будет происходить уменьшение механического напряжения в мембране и увеличение подвижности ее составляющих. Это приведет к «рассхатыванию» рецепторной системы плазмалеммы и повышению ее восприимчивости к АБК и, значит, к эффективности гормонального сигнала с участием Ca^{2+} -сигнальной системы.

Таким образом, установленная экспериментально частичная деструкция цитоскелетных структур, свидетельствующая о глубокой перестройке их организации, является важным звеном в передаче сигнала от АБК на ростовые процессы, то есть это элемент стресс-устойчивой программы, запускаемой АБК и включающей торможение ростовых процессов через замедление роста клеток растяжением и водного обмена. В связи с этим можно предположить, что накопление АБК в первые дни холодового закаливания, индуцируя разборку цитоскелетной сети, является сигналом для адаптационных процессов на начальных этапах закаливания растений.

Везикулярный транспорт веществ – важное звено различных типов сигналинга растений

Участие цитоскелета в процессах эндоцитоза и циркуляции везикул в настоящее время является предметом пристального внимания исследователей [90]. Эндоцитозу отводится важная роль в поглощении растительной клеткой жидкости и питательных веществ, отражении атаки патогенов и формировании симбиоза, в процессах обновления и деградации рецепторов плазматической мембраны, передаче сигнала внутрь клетки и за ее пределы [91]. В процессе эндоцитоза происходит интернализация и циркулирование молекул плазматической мембраны, в том числе рецепторов [92–95]. Поскольку ключевые сигнальные компоненты локализуются в эндоцитозных везикулах, то при эндоцитозе обеспечивается их контакт с активированными рецепторами, что включает работу сигнального пути. Для растений характерны по крайней мере четыре основные формы эндоцитоза: фагоцитоз, пиноцитоз, рецептор-опосредованный эндоцитоз, при котором клеточная мембрана выпячивается внутрь клетки и формирует окаймленные ямки, содержащие адаптивный белок клатрин, обуславливающий необходимую кривизну выпучивания, и эндоцитоз с помощью липидного рафта [90].

Растения содержат большое семейство Rab ГТФаз, регулирующих почкование, слияние и транспорт везикул. У арабидопсиса идентифицировано 57 генов, кодирующих Rab ГТФазы, что указывает на важное место эндоцитоза в жизнедеятельности клеток растений [18].

В растениях обнаружены клатрин и большинство белков, необходимых для формирования клатриновой оболочки окаймленных ямок и пузырьков. Так, в работе [98] у *Arabidopsis* был охарактеризован адаптерный белок AP180, участвующий в полимеризации клатрина. Установлено, что окаймленные пузырьки растительных клеток имеют размер 70–90 нм, тогда как окаймленные пузырьки животных клеток – 120 нм, что может быть обусловлено высоким тургорным давлением клеток растений [90, 98].

В настоящее время недостаточно сведений о клатриннезависимом эндоцитозе у растений, а также отсутствуют данные о кавеолине – группе мембранных белков рецепторнезависимого эндоцитоза. Тем не менее в литературе обсуждается существование у растений липидного рафта, поскольку стеролы, стигмастеролы и ситостеролы, необходимые для формирования липидного рафта, обнаружены в растительных клетках [99]. Известно, что структурные стеролы плазматической мембраны интернализировались и были локализованы совместно с Rab ГТФазой Aгаб на эндосомах. Структурные стеролы участвуют в локализации переносчика ауксина PIN1 [90].

При изучении эндоцитоза растительных клеток находит широкое применение брефельдин А – вещество грибного происхождения. Этот ингибитор полностью останавливает экзоцитоз, но позволяет протекать начальным стадиям эндоцитоза [90], индуцируя образование специфических компартментов. В этих брефельдин-индуцированных компартментах накапливаются такие белки плазмалеммы, как PIN1 и PIN2, H⁺-АТРаза, а также цитокенезспецифичный синтаксин KNOLLE и связывающийся с ним белок AtSNAP33, малые ГТФазы Agf1 и Pra2, структурные стеролы, пектины клеточной стенки [90]. Предполагается, что компартменты брефельдина А представляют собой мембранные везикулярные органеллы, которые образуются из эндосом и диктиосом аппарата Гольджи [91]. Аналогичная гибридная органелла образуется в обработанных брефельдином А клетках животных [100, 101].

Использование фармакологических препаратов позволило исследовать роль актинового цитоскелета в эндоцитозе растений. Ингибиторы полимеризации МФ – латрункулин В и цитохалазин Д – останавливали образование брефельдин-индуцированных компартментов. Латрункулин В и 2,3-бутадиион-монооксим, который является ингибитором миозина, изменяли пиноцитоз в клетках корней кукурузы [102]. Еще одна серия экспериментов с цитохалазином Д показала, что транспорт стеролов зависит от интактного актинового цитоскелета [94]. Все эти данные указывают на важную роль МФ в эндоцитозе.

Функционирование цитоскелета в процессах эндоцитоза изучена на примере корневых волосков и пыльцевых трубок [7]. В этих клетках обнаружены динамин [103], актин, профилин и связанный с актином Agr3-подобный белок [20]. Динамин представляет собой большую ГТФазу, которая участвует во всех формах эндоцитоза у эукариот, отделяя и перемещая везикулы с клатриновой и кавеолиновой оболочками от плазматической мембраны [105, 106]. Динамин

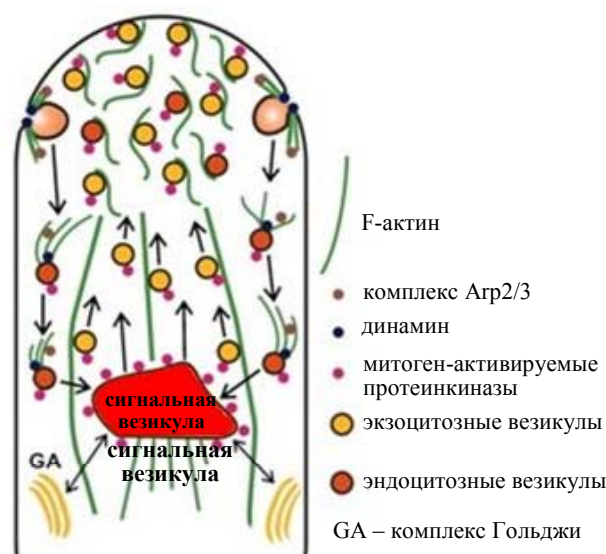


Рис. 7. Модель везикулярного движения в идеальной клетке корневого волоска. Стрелками показано полярное движение экзо- и эндоцитозных везикул [90]

может связываться с белками, взаимодействующими с МФ [106], в том числе и с профилином. В работах Кенга с соавторами [107, 108] установлено включение динамин-подобного белка ADL1, выделенного из арабидопсиса, в формирование везикул на плазматической мембране. У мутантных по ADL1 растений на плазмалемме было обнаружено большое количество инвагинаций, что свидетельствует о нарушении процесса отшнуровывания эндосомальных везикул. Другой динамин-подобный белок ADL6 способен связываться с везикулами и плазмалеммой [108].

Показано, что в клетках кончиков корневых волосков движение везикул зависит от концентрации Ca^{2+} и происходит с помощью актинового цитоскелета [7]. Брефельдин А ингибировал рост корневых волосков, одновременно вызывая деполимеризацию актиновых филаментов в их клетках [109]. Известно, что сигнальные ГТФазы семейства Rop играют важную роль как в перестройке актинового цитоскелета, так и в создании градиента Ca^{2+} в клетках корневых волосков и пыльцевых трубок [12]. По-видимому, процессы почкования и движения везикул зависят от полимеризации/деполимеризации актина, что подтверждается экспериментальными данными [110]. В связи с этим авторы [90] предложили модель везикулярного движения и возможной роли в этом процессе актинового цитоскелета в идеальной клетке корневого волоска (рис. 7). Согласно этой модели быстрая полимеризация актина, необходимая для движения сформировавшихся эндосомальных везикул, происходит с помощью Agr2/3-комплекса. Сигнальные молекулы MAPKs соединяются как с везикулами, так и с актиновым цитоскелетом. Плотная сеть МФ, регулируемая профилином и Agr2/3-комплексом, служит рельсами не только для движения везикул, но и для регуляторных и сигнальных молекул, включая MAPKs (митоген-активируемые протеинкиназы) [109, 110].

Взаимодействие между индуцированной стрессом митоген-активируемой протеинкиназой SAMK, актиновым цитоскелетом и везикулярным транспортом регулирует апикальный рост клеток корневых волосков растений [109]. SAMK накапливается в обогащенных везикулами областях кончиков корневых волосков. Под влиянием брэфельдина А происходит перераспределение МФ и SAMK: они исчезают в растущей части клетки и совместно перемещаются в центральную часть клетки. Ингибитор SAMK – U0126 – восстанавливал апикальный рост клеток, а также изменял транспорт везикул и общую цитоархитектонику корневых волосков [109]. Эти данные свидетельствуют о взаимодействии актинзависимого эндоцитоза, полярного роста и MAPK-сигналинга [90]. Но детальные функции актинового цитоскелета в этих процессах еще предстоит раскрыть.

Сигнальная функция цитоскелета в процессах роста и морфогенеза растений

Согласно общепринятой точке зрения рост и морфогенез растений контролируются высокой динамичностью взаимодействий основных компонентов цитоскелетной сети – тубулиновых МТ, актиновых МФ и ассоциированных с ними белков (MAPs и ABPs) – как между собой, так и с клеточной стенкой [111, 112].

Участие цитоскелетных структур как МТ, так и МФ в процессах роста и развития является экспериментально доказанным фактом [1–6]. Эти структуры определяют внутриклеточную архитектуру клетки, необходимы для транспортировки строительного материала клеточной стенки и плазмалеммы, и, возможно, создают дополнительную движущую силу для растяжения клеток [13].

МТ и МФ вследствие специфического расположения в клетке передают информацию от ядерного аппарата в периферические области цитоплазмы и плазмалемму, где контролируется большинство процессов клеточного роста и образования межклеточных контактов [4]. Особенно важная роль отводится мембранно-цитоскелетному комплексу в формировании и поддержании клеточной полярности, координации процессов полярного роста и реализации морфогенетических программ развития [39]. Так, выделенный из арабидопсиса ген AN отвечает за полярный рост листа, регулируя организацию МТ [113].

Важная роль в морфогенезе растений отводится МТ в кортикальной области клеток [84]. Их деструкция под действием динитроанилинов подавляет клеточное деление, растяжение и дифференцировку. При этом нередко из-за замедления митоза появляются многоядерные клетки, нарушается ориентация целлюлозных микрофибрилл в клеточной стенке, происходят искривления клеточных стенок и срединных пластинок в результате снижения транспорта секреторных везикул к определенным точкам роста и неоднородного отложения доставляемого материала. Все это приводит к утрате полярности клеточного роста и возникновению округлых или неправильной формы клеток [114–116]. Такие изменения клеток вызывают угнетение роста корней и увеличение диаметра их апексов – так называемый свэллинг. Причиной апикального свэллинга у корней с подавленным полярным ростом может быть нарушение градиента Ca^{2+} и локального повышения его концентрации, что может быть, в свою очередь, причиной замедления экзоцитоза и тем самым растяжения клеток [7].

Механизмы вовлечения актиновых МФ в процессы клеточного роста до конца не выяснены, но их участие также не вызывает сомнения. В литературе есть сведения о реорганизации актинового цитоскелета в ответ на изменяющийся статус клеток корней при элонгации и дифференцировке [111]. Разбора F-актиновых филаментов ингибирует линейный рост многих видов растений в результате торможения роста клеток растяжением [117]. По-видимому, непрерывная и быстрая реорганизация актинового цитоскелета обеспечивает изменения формы клетки и ее своевременные ответные реакции на внутриклеточные и внешние сигналы [2].

В растущих клетках направление отложения новых микрофибрилл целлюлозы соответствует ориентации кортикальных МТ [30]. До настоящего времени точно не выяснено, как происходит взаимодействие МТ с синтезируемыми микрофибриллами целлюлозы, но существует несколько гипотез относительно воздействия МТ на их ориентацию. Согласно одной из них, целлюлосинтезные комплексы перемещаются вдоль МТ. Позднее появилась «матричная» гипотеза, которая предполагает, что отложение новых микрофибрилл целлюлозы происходит вдоль МТ и параллельно уже существующим микрофибриллам и регулируется расположением белков матрикса клеточной стенки и плазмалеммы, прямо или косвенно связанных с МТ [13]. Параллельно расположенные кортикальные МТ и микрофибриллы целлюлозы опоясывают клетку наподобие обручей, вследствие чего клеточная стенка становится более растяжимой в направлении, перпендикулярном микрофибриллам целлюлозы. В результате в диффузно растущих клетках наряду с растягивающимися доменами плазмалеммы и клеточной стенки имеются и нерастягивающиеся домены, которые различаются по функционирующим сигнальным системам [15]. В ходе дифференцировки трахеидных элементов в мезофилле *Zinnia* положение актиновых филаментов совпадает с ориентацией целлюлозных микрофибрилл клеточной стенки. По-видимому, МФ, пронизывая цитоплазму, контролируют ориентацию МТ и стабилизируют их, а также участвуют в направленном транспорте секреторных пузырьков. Таким образом, МТ определяют полярность диффузного роста клеток, а МФ – скорость диффузного роста [16].

Роль актинового цитоскелета в большей степени изучена для апикального роста клеток. Примерами таких клеток являются корневые волоски и пыльцевые трубки. Толстые нити актина, расположенные вдоль продольной оси растущей пыльцевой трубки по кругу, определяют циклозис и транспорт секреторных пузырьков, обеспечивают двустороннее движение цитоплазмы [16, 26].

Участие цитоскелета в ответах клеток на стимулы, влияющие на рост и морфогенез, определяется высокой динамичностью взаимодействий кортикальной цитоскелетной сети (МТ, МФ, АВРs, МАРs) с клеточной стенкой, опосредованных молекулами, локализованными в плазмалемме [40]. Особенно большое значение имеет динамичность F-актиновой сети, тесно связанной с сигнальными путями плазмалеммы.

В наших работах [84, 104] мы попытались ответить на вопрос о том, каким образом реализуется контролирующая функция цитоскелетных структур в ростовых и морфологических ответах растений, адаптирующихся к низким температурам и развивающих устойчивость к ним под влиянием АБК. По данным морфометрии, световой микроскопии и микрофотографии оризалин (ингибитор

полимеризации тубулиновых белков) вызывал появление луковичеобразных утолщений на кончиках корней. В радиальном направлении изменениям подвергались все клетки корня, но больше всего субэпидермальные клетки коровой паренхимы. При этом клетки приобретали округлую, неправильную форму и увеличивались в размерах вследствие потери полярности роста. Эти изменения сопровождались существенным уменьшением (вплоть до исчезновения) в клетках кортикальных МТ.

Наибольшее апикальное утолщение корней, как и ингибирование их линейного роста, под влиянием оризалина отмечены у среднеморозоустойчивого сорта по сравнению с мало- и высокоморозоустойчивыми сортами. Такой эффект оризалина коррелировал с содержанием тубулиновых и актиновых белков в корнях среднеморозоустойчивого сорта Мироновская 808. Причиной сортовых различий ростовых и морфологических показателей корней при деполимеризации МТ, вероятно, является разное содержание цитоскелетных белков и их соотношение. Повышенный уровень тубулинов – мишеней для оризалина – в клетках Мироновской 808 может привести к более сильной деструкции МТ-цитоскелета и, как следствие, к более значительной разборке связанной с ним кортикальной F-актиновой сети. Возникающие при этом нарушения трансмембранных взаимодействий F-актина с клеточной стенкой будут способствовать более выраженным эффектам апикального утолщения корней на уровне клеток и тканей. Закаливание растений к холоду и экзогенная АБК сортоспецифично снижали действие оризалина на корни.

В связи с полученными результатами выдвинута точка зрения о том, что пролиферация цитоскелетной сети и связанное с этим накопление в клетках цитоскелетных белков определяют эффективность цитоскелетного контроля процессов роста и морфогенеза растений, что имеет значение для лучшей приспособляемости растений к колебаниям температуры в осенне-зимний период, и следовательно, для развития у них высокой экологической пластичности.

Эти и другие сведения литературы [118, 119] указывают на то, что актиновые и тубулиновые филаменты в равной степени определяют направление и скорость роста растительной клетки. Если МТ располагаются перпендикулярно основному направлению роста клеток, то МФ – вдоль оси вытягивания клетки. По-видимому, МФ участвуют в организации и стабилизации МТ, а также необходимы для транспорта секреторных пузырьков, поставляющих строительный материал для зон роста. С другой стороны, актиновые филаменты участвуют в процессах эндо- и экзоцитоза, необходимых для роста клеток. Плотные субпопуляции актина могут служить барьером, препятствующим локальному транспорту пузырьков и экзоцитозу, тормозя рост [16].

Анализ имеющихся в литературе сведений и собственных экспериментальных данных позволил представить в виде схемы (рис. 8) последовательность событий, отражающих участие цитоскелета в процессах роста и морфогенеза растений, в трансдукции сигналов при гормональном и температурном воздействиях. При составлении данной схемы мы исходили из существующего представления, согласно которому полярный рост и создание специфических форм клеток в большей степени контролируются актиновым цитоскелетом, и прежде всего кортикальной F-актиновой сетью, тесно связанной с сигнальными путями плазмалеммы и кортикальными МТ [4, 8, 15, 16].

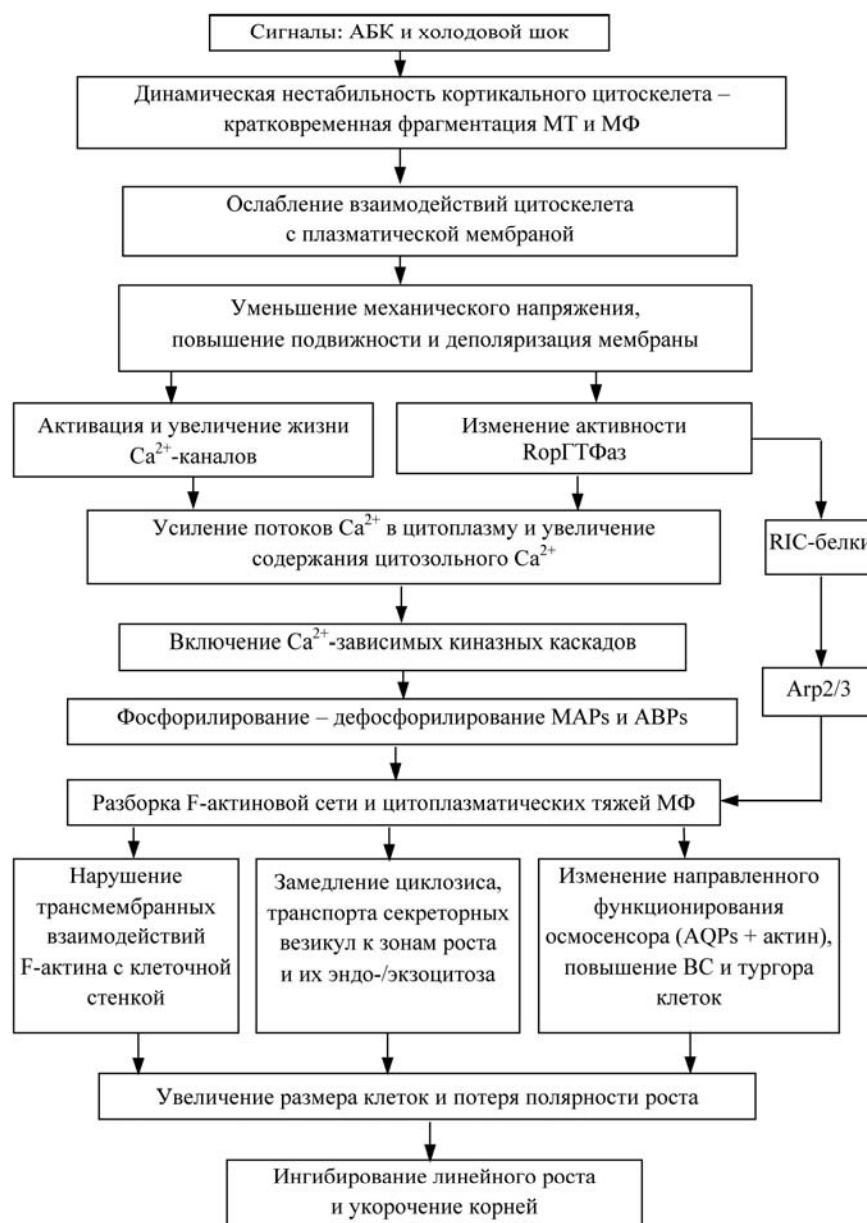


Рис. 8. Механизм действия АБК и низких температур на рост и морфогенез корней: RopГТФазы – малые ГТФазы; MAPs – белки, ассоциированные с МТ; ABPs – актинсвязывающие белки; RIC – белки, взаимодействующие с малыми ГТФазами; Agr2/3 – актин-белковый комплекс; AQPs – аквапорины; ВС – водоудерживающая способность

Заключение

Имеющиеся к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что цитоскелет является важным звеном функционирования сигнальных систем растений. Свойственная компонентам цитоскелета высокая динамическая нестабильность

и чувствительность к различным факторам среды (свет, сила тяжести, температура, патогены и др.) определяет его сигнальные функции и, в конечном итоге, адекватные ответы растений на изменяющиеся условия среды. Использование иммунофлуоресцентных технологий, маркерных белков GFP и препаратов, разрушающих цитоскелет, показало, что МТ и МФ, взаимодействуя с интермедиатами сигнальных систем (фосфолипазой Д, кальмодулином, Ca^{2+} -связывающими белками, MAPK, Ca^{2+} -зависимыми протеинкиназами и др.), участвуют в различных формах внутриклеточной подвижности. Актиновому цитоскелету принадлежит важная роль в осуществлении информационного обмена между клетками через синапсоподобные участки клеток и в осуществлении эндоцитоза и циркуляции везикул. Именно в процессах эндоцитоза происходит интернализация сигнальных компонентов клетки и их контакт с активированными рецепторами, что и включает работу сигнальных путей.

Образованный клеточной стенкой, плазмалеммой и цитоскелетом поверхностный аппарат клетки вместе со специфическим расположением в клетке МТ и МФ создают механическую связь между плазматической мембраной и ядром, преобразуя механические силы в биохимические сигналы, передаваемые на геном. Выявлена роль специфических для растений малых ГТФаз (Rop ГТФаз) в передаче сигналов на актиновый цитоскелет. Есть основания считать, что цитоскелет-зависимое влияние сигнальных систем на ростовые и формообразовательные процессы клеток при действии на растения различных факторов обуславливаются динамической нестабильностью и пространственной реорганизацией МФ и МТ, сигналы от которых через сложную цепь промежуточных звеньев трансдуцируются на геном. Измененная генетическая программа вместе с перестройкой субклеточной архитектоники клетки и пространственно-временной координации клеточного метаболизма являются определяющими для всех стадий клеточного роста, формообразования клеток, органов, их полярности и в конечном итоге для процессов роста и развития целого растения.

Summary

L.P. Khokhlova, Yu.Yu. Nevmerzhitskaya. The Role of Cytoskeleton in Plant Signaling Systems.

This overview presents the analysis of literature and the author's own research results on the role of cytoskeleton in plant cells signaling systems. The main components of cytoskeleton – tubulin microtubules and actin microfilaments – are characterized by a great dynamic instability being constantly in an assembly/disassembly state and changing in their structural and polymeric state, localization, orientation, isotope composition, and contacts between each other and cell structures. It is the reorganization of cytoskeleton occurring in response to external and internal factors that determines its signaling functions. Cytoskeleton-dependent signaling initiates a chain of biochemical and physiological reactions, which influence cells' and organs' form, microstructure of tissues, division, polarity, differentiation, different types of cells mobility, as well as exo- and endocytosis and vesicular transport of substances. The work also considers new data about the possible participation of cytoskeleton in intercellular communication via "synapse-like" contacts.

Key words: plants, cytoskeleton, dynamic instability, signals, transduction, cell response.

Литература

1. *Lloyd C., Chan J.* Microtubules and the Shape of Plants to Come // *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* – 2004. – V. 5, No 1. – P. 13–23.
2. *Клячко Н.Л.* Динамика актина в растительной клетке // *Материалы Всерос. конф., посвя. 75-летию кафедры физиологии и биотехнологии растений.* – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2007. – С. 52–58.
3. *Baskin T.I.* The Cytoskeleton // *Biochemistry and Molecular Biology of Plant* / Eds. B.B. Buchanan, W. Cruissem, R.L. Jones. – Rockville: Courier Companies, 2000. – V. 51. – P. 202–258.
4. *Barlow W.P., Baluška F.* Cytoskeletal perspectives on root growth and morphogenesis // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2000. – V. 51. – P. 289–322.
5. *Azimzadeh J., Traas J., Pastuglia M.* Molecular aspects of microtubule dynamics in plant // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2001. – V. 4, No 6. – P. 513–519.
6. *Wasteneys G.O.* Microtubule organization in the green kingdom: chaos or self-order? // *J. Cell Sci.* – 2002. – V. 115, No 7. – P. 1345–1354.
7. *Hepler P.K., Vidali L., Cheung A.Y.* Polarized Cell Growth in Higher Plants // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2001. – V. 17. – P. 159–187.
8. *Staiger C.J., Lloyd C.W.* The plant cytoskeleton // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 1991. – V. 3, No 1. – P. 33–42.
9. *Derksen I., Wilms F.H.A., Pierson E.S.* The plant cytoskeleton: its significance in plant development // *Acto Bot. Neerl.* – 1990. – V. 39, No 1. – P. 1–18.
10. *Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 293 с.
11. *Nick P.* Signaling to the microtubular cytoskeleton in plants // *Int. Rev. Cytol.* – 1998. – V. 184. – P. 33–79.
12. *Gardiner J., Collings D.A., Harper J.D.I., Marc J.* The effect of the phospholipase D-antagonist 1-butanol on seedling development and microtubule organisation in *Arabidopsis* // *Plant Cell Physiol.* – 2003. – V. 44, No 7. – P. 687–696
13. *Nick P.* Signals, motors, morphogenesis – the cytoskeleton in plant development // *Plant Biol.* – 1999. – V. 1, No 2. – P.169–179.
14. *Tan Z., Boss W.F.* Association of phosphatidylinositol kinase, phosphatidylinositol monophosphate kinase, and diacylglycerol kinase with the cytoskeleton and F-actin fractions of carrot (*Daucus carota* L.) cells grown in suspension culture. Response to cell wall-degrading enzymes // *Plant Physiol.* – 1992. – V. 100, No 4. – P. 2116–2120.
15. *Клячко Н.Л.* Актин растений: множественные уровни регуляции // *Физиол. раст.* – 2006. – Т. 53, № 5. – С. 790–798.
16. *Клячко Н.Л.* Актиновый цитоскелет и форма растительной клетки // *Физиол. раст.* – 2004. – Т. 51, № 6. – С. 918–925.
17. *Fu Y., Wu G., Yang Z.* Rop GTPase-Dependent Dynamics of Tip-Localized F-Actin Controls Tip Growth in Pollen Tubes // *J. Cell Biol.* – 2001. – V. 152, No 5. – P. 1019–1032.
18. *Новиков Г.В., Мошкова И.Е.* Суперсемейство мономерных ГТФ-связывающих белков растений. 2. RAB-белки – регуляторы везикулярного транспорта и ответных реакций растений на стрессы // *Физиол. раст.* – 2008. – Т. 55, № 1. – С. 127–139.
19. *Wu G., Gu Y., Li S., Yang Z.* A Genome-Wide Analysis of *Arabidopsis* Rop-Interactive CRIB Motif-Containing Proteins That Act as Rop GTPase Targets // *Plant Cell.* – 2001. – V. 13, No 12. – P. 2841–2856.
20. *Van Gestel K., Slegers H., von Witsch M., Samaj J., Baluška F., Verbelen J.P.* Immunological Evidence for the Presence of Plant Homologues of the Actin-Related Protein

- Arp3 in Tobacco and Maize: Subcellular Localization to Actin-Enriched Pit Fields and Emerging Root Hairs // *Protoplasma*. – 2003. – V. 222, No 1–2. – P. 45–52.
21. Mathur J., Mathur N., Kernebeck B., Hülskamp M. Mutations in Actin-Related Proteins 2 and 3 Affect Cell Shape Development in *Arabidopsis* II // *Plant Cell*. – 2003. – V. 15, No 7. – P. 1632–1645.
 22. Le J., El-Assal Salah El-Din, Basu D., Saad M.E., Szymanski D.B. Requirements for *Arabidopsis* AtARPL and AiARPJ during Epidermal Development // *Curr. Biol*. – 2003. – V. 13, No 8. – P. 1341–1347.
 23. Li H., Lin Y., Heath R.M., Zhu M.X., Yang Z. Control of Pollen Tube Tip Growth by a Rop GTPase-Dependent Pathway That Leads to Tip-Localized Calcium Influx // *Plant Cell*. – 1999. – V. 11, No 9. – P. 1731–1742.
 24. Mathur J. The Arp2/3 Complex: A Giving Plant Cells a Leading Edge // *BioEssays*. – 2005. – V. 27, No 4. – P. 377–387.
 25. Cheung A.Y., Wu H.M. Over expression of an *Arabidopsis* Formin Stimulates Supernumerary Actin Cable Formation from Pollen Tube Cell Membrane // *The Plant Cell*. – 2004. – V. 16, No 1. – P. 257–269.
 26. Baluška F., Salaj J., Mathur J., Braun M., Jasper F., Šamaj J., Chua N.-H., Barlow P.W., Volkmann D. Root hair formation: F-actin-dependent tip growth is initiated by local assembly of profilin-supported F-actin meshworks accumulated within expansin-enriched bulges // *Dev. Biol*. – 2000. – V. 227, No 2. – P. 618–632.
 27. Friml J., Wisniewska J., Benkova E., Mendgen K., Palme K. Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis* // *Nature*. – 2002. – V. 415, No 2. – P. 806–809.
 28. Orvar B.L., Sangwan V., Omann F., Dhindsa R. Early steps in cold sensation by plant cells: of actin cytoskeleton and membrane fluidity // *Plant J*. – 2000. – V. 23, No 6. – P. 785–794.
 29. Sangwan V., Orvar B.L., Beyerly J., Hirt H., Dhindsa R.S. Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP-kinase pathways // *Plant J*. – 2002. – V. 31, No 5. – P. 629–638.
 30. Васильев А.Е. Сравнительная структурно-функциональная характеристика цитоскелета животных и высших растений // *Журн. общ. биол.* – 1996. – Т. 57, № 3. – С. 293–325.
 31. Heslop-Harrison J., Heslop-Harrison Y. Myosin Associated with the Surface of Organelles, Vegetative Nuclei and Generative Cells in Angiosperm Pollen Grains and Tubes // *J. Cell Sci*. – 1989. – V. 94. – P. 319–325.
 32. Reichelt S., Knight A.E., Hodge T.P., Baluška F., Samaj J., Volkmann D., Kendrick-Jones J. Characterization of Unconventional Myosin VIII in Plant Cells and Its Localization at the Postcytokinetic Cell Wall // *Plant J*. – 1999. – V. 19, No 5. – P. 555–567.
 33. Lee Y.P.J., Liu B. Cytoskeletal Motors in *Arabidopsis*. Sixty-One Kinesins and Seventeen Miosins // *Plant Physiol*. – 2004. – V. 136, No 4. – P. 3877–3883.
 34. Cyr R.J., Palevitz B.A. Organization of cortical microtubules in plant cells // *Curr. Opin. Cell Biol*. – 1995. – V. 7, No 1. – P. 65–71.
 35. Bush D.S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*. – 1995. – V. 46. – P. 95–122.
 36. Fisher D.D., Cyr R.J. Calcium levels affect the ability to immunolocalize calmodulin to cortical microtubules // *Plant Physiol*. – 1993. – V. 103, No 2. – P. 543–551.
 37. Fisher D., Gilroy S., Cyr R. Evidence for opposing effects of calmodulin on cortical microtubules // *Plant Physiol*. – 1996. – V. 112, No 3. – P. 1079–1087.

38. Туркина М.В., Соколов О.И. Миозины – моторные белки актомиозиновой системы подвижности: связь с мембранами и путями передачи сигналов // Физиол. раст. – 2001. – Т. 48, № 5. – С. 788–800.
39. Baluška F., Samay J., Wojtaszek P., Volkman D., Menzel D. Cytoskeleton-Plasma Membrane-Cell Wall Continuum in Plants. Emerging Links Revisited // Plant Physiol. – 2003. – V. 133, No 2. – P. 482–491.
40. Zhou J., Wang B., Li Y., Wang Y., Zhu L. Responses of Chrysanthemum Cells to Mechanical Stimulation Require Intact Microtubules and Plasma Membrane – Cell Wall Adhesion // J. Plant Growth Regul. – 2007. – V. 26, No 1. – P. 55–68.
41. Медведев С.С. Кальциевая сигнальная система растений // Физиол. раст. – 2005. – Т. 52, № 2. – С. 282–305.
42. Abdрахманова А.Ф., Wang Q.Y., Khokhlova L.P., Nick P. Is Microtubule Disassembly a Trigger for Cold Acclimation? // Plant Cell Physiol. – 2003. – V.44, No 7. – P. 676–686.
43. Thomashow M.F. So what's new in the field of plant cold acclimation? Lots! // Plant Physiol. – 2001. – V. 125, No 1. – P. 89–93.
44. Monroy A.F., Castonguay Y., Laberge S., Sarhan F., Vezina L.P., Dhindsa R.R. A new cold-induced alfalfa gene is associated with enhanced hardening at subzero temperature // Plant Physiol. – 1993. – V. 102, No 3. – P. 873–879.
45. Nick P. Plant Microtubules. Development and Flexibility (Plant Cell Monogr. V. 11). – Berlin; Heidelberg; N. Y.: Springer-Verlag 2008. – XIV + 269 p.
46. Sangwan V., Foulds I., Singh J., Dhindsa R.S. Cold-activation of *Brassica napus* BN115 promoter is mediated by structural changes in membranes and cytoskeleton, and requires Ca²⁺ influx // Plant J. – 2001. – V. 27, No 1. – P. 1–12.
47. Mazars C., Thion L., Thuleau P., Graziana A., Knight M.R., Moreau M., Ranjeva R. Organization of cytoskeleton controls the changes in cytosolic calcium of cold-shocked *Nicotiana plumbaginifolia* protoplasts // Cell Calcium. – 1997. – V. 22. – P. 413–420.
48. Oulett F., Carpenet E., Cope M.J., Monroy A.F., Sarhan F. Regulation of a Wheat Actin-Depolymerizing factor during Cold Acclimation // Plant Physiol. – 2001. – V. 125, No 1. – P. 360–368.
49. Waser M., Mesaeli N., Spencer C., Michalak M. Regulation of Calreticulin Gene Expression by Calcium // J. Cell Biol. – 1997. – V. 138, No 3. – P. 547–557.
50. Denecke J., Carlsson L.E., Vidal S., Høglund A., Ek B., Zeijl M.J., Sinjorgo K.M.C., Palva T. The Tobacco Homolog of Mammalian Calreticulin Is Present in Protein Complexes *in vivo* // Plant Cell. – 1995. – V. 7, No 4. – P. 391–406.
51. Michalak M., Mariani P., Opas M. Calreticulin, a Multifunctional Ca²⁺ Binding Chaperone of the Endoplasmic Reticulum // Biochem. Cell Biol. – 1998. – V.76, No 5. – P. 779–785.
52. Mery L., Mesaeli N., Michalak M., Opas M., Lew D.P., Krause K.H. Overexpression of Calreticulin Increases Intracellular Ca²⁺ Storage and Decreases Store-Operated Ca²⁺ Influx // J. Biol. Chem. – 1996. – V. 271, No 16. – P. 9332–9339.
53. Debhar S., Rennie P.S., Shago M., Leung-Hagesteijn C.Y., Filmus J., Hawley R.G., Bruchovsky N., Cheng H., Matusik R.J., Giguere V. Inhibition of Nuclear Hormone Receptor Activity by Calreticulin // Nature. – 1994. – V.367, No 6462. – P. 480–483.
54. Sapiro R.G., Zhu Q., Bhoyroo V., Soling H.D. Definition of the Lectin-Like Properties of the Molecular Chaperone, Calreticulin, and Demonstration of Its Copurification with Endomannosidase from Rat Liver Golgi // J. Biol. Chem. – 1996. – V. 271, No 19. – P. 11588–11594.
55. Lievremont J.P., Rizzuto R., Hendershot L., Meldolesi J. Bip, a Major Chaperone Protein of the Endoplasmic Reticulum Lumen, Plays a Direct and Important Role in the Storage

- of the Rapidly Exchanging Pool of Ca^{2+} // *J. Biol. Chem.* – 1997. – V. 272, No 49. – P. 30873–30879.
56. *Anderson J.V., Li Q.B., Guy C.L.* Structural Organization of the Spinach Endoplasmic Reticulum Luminal 70-kilodalton Heat-Shock Cognate Gene and Expression of 70-kilodalton Heat-Shock Genes during Cold Acclimation // *Plant Physiol.* – 1994. – V. 104, No 4. – P. 1359–1370.
57. *Coppolino M.G., Dedhar S.* Ligand-Specific, Transient Interaction between Integrins and Calreticulin during Cell Adhesion to Extracellular Matrix Proteins Is Dependent upon Phosphorylation/Dephosphorylation Events // *Biochem. J.* – 1999. – V. 340. – P. 41–50.
58. *Mogelsvang S., Simpson P.J.* Changes in the Levels of Seven Proteins Involved in Polypeptide Folding and Transport during Endosperm Development of Two Barley Genotypes Differing in Storage Protein Localization // *Plant Mol. Biol.* – 1998. – V. 36. – P. 541–552.
59. *Олиневич О.В., Хохлова Л.П.* Цитоскелет-зависимые изменения структурной организации ретикулоплазминов в клетках пшеницы при закаливании к холоду и действию абсцизовой кислоты // *Физиол. раст.* – 2002. – Т. 49, № 2. – С. 221–229.
60. *Олиневич О.В., Хохлова Л.П., Раудаскоски М.* Ретикулоплазмины – Бип и Калретикулин при действии на проростки пшеницы *Triticum aestivum* L. низких температур и антимиотического агента оризалина // *Докл. РАН.* – 2001. – Т. 377, № 1. – С. 135–138.
61. *Baluška F., Volkman D., Menzel D.* Plant synapses: actin-based domains for cell-to-cell communication // *Trend Plant Sci.* – 2005. – V. 10, No 3. – P. 106–111.
62. *Campanoni P., Blasius B., Nick P.* Auxin Transport Synchronizes the Pattern of Cell Division in a Tobacco Cell Line1 // *Plant Physiol.* – 2003. – V. 133, No 3. – P. 1251–1260.
63. *Schulze-Lefert P.* Knocking on the heavens wall: pathogenesis of and resistance to biotrophic fungi at the cell wall // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2004. – V. 7, No 1. – P. 1–7.
64. *Клячко Н.Л.* Цитоскелет и внутриклеточная подвижность у растений // *Физиол. раст.* – 2005. – Т. 52, № 5. – С. 786–795.
65. *Reddy A.S.N.* Molecular motors and their functions in plants // *Int. Rev. Cytol.* – 2001. – V. 204. – P. 97–178.
66. *Coluccio L.M.* Myosins: A Superfamily of Molecular Motors. – Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2007. – 475 p.
67. *Reddy A.S.H., Day I.S.* Kinesins in the *Arabidopsis* Genome: A Comparative Analysis among Eukaryotes // *BMC Genomics.* – 2001. – V. 2, No 2. – URL: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2164-2-2.pdf>, свободный.
68. *Marcus A.J., Li W., Ma H., Cyr R.J.* A Kinesin Mutant with an Atypical Bipolar Spindle Undergoes Normal Mitosis // *Mol. Biol. Cell.* – 2003. – V. 14, No 4. – P. 1717–1726.
69. *Preuss M.L., Delmer D.P., Liu B.* The Cotton Kinesin-Like Calmodulin-Binding Protein Associates with Cortical Microtubules in Cotton Fibers // *Plant Physiol.* – 2003. – V. 132, No 1. – P. 154–160.
70. *Preuss M.L., Kovar D.P., Lee Y.-R. J., Starger C. J., Delmer D.P., Liu B.* A Plant-Specific Kinesin Binds to Actin Microfilaments and Interacts with Cortical Microtubules in Cotton Fibers // *Plant Physiol.* – 2004. – V. 136, No 4. – P. 3945–3955.
71. *Zhong P., Burk D.H., Morrison W.H., Ye Z.-H.* A Kinesin-Like Protein Is Essential for Oriented Deposition of Cellulose Microfibrils and Cell Wall Strength // *Cell.* – 2002. – V. 14, No 12. – P. 3101–3117.
72. *Moscatelli A., del Casino C., Lozzi L., Cai G., Scali Tiezzi A., Cresti M.* High Molecular Weight Polypeptides Related to Dynein Heavy Chains in *Nicotiana tabacum* Pollen Tubes // *J. Cell Sci.* – 1995. – V. 1. – P. 1117–1125.

73. *Romagnoli S., Cai G., Cresti M.* In Vitro Assays Demonstrate That Pollen Tube Organelles Use Kinesin-Related Motor Proteins to Move along Microtubules // *Plant Cell*. – 2003. – V. 15, No 1. – P. 251–269.
74. *Sakai T., Kagawa T., Kasahara M., Swartz T.E., Christie J. M., Briggs W.Ji., Wada M., Okada K.* Arabidopsis Nphl and Np11: Blue Light Receptors That Mediate Both Phototropism and Chloroplast Relocation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2001. – V. 98. – P. 6969–6974.
75. *Sheahan M.B., Jose R.J., McCurdy D.W.* Organelle Inheritance in Plant Cell Division: The Actin Cytoskeleton Is Required for Unbiased Inheritance of Chloroplasts, Mitochondria and Endoplasmic Reticulum in Dividing Protoplasts // *Plant J*. – 2004. – V. 37, No 3. – P. 379–390.
76. *Wang Q.Y., Nick P.* Cold acclimation can induce microtubular cold stability in a manner distinct from abscisic acid // *Plant Cell Physiol*. – 2001. – V. 42, No 9. – P. 999–1005.
77. *Blancaflor E.B., Hasenstein K.H.* Organization of cortical microtubules in graviresponding maize roots // *Planta*. – 1993. – V. 191, No 2. – P. 231–237.
78. *Shibaoka H.* Regulation by gibberellins of the orientation of cortical microtubules in plant cells // *Austr. J. Plant Physiol*. – 1993. – V. 20, No 5. – P. 461–470.
79. *Shibaoka H.* Involvement of wall microtubules in gibberellin promotion and kinetin inhibition of stem elongation // *Plant Cell Physiol*. – 1974. – V. 15, No 2. – P. 255–263.
80. *Grabski S., Schindler M.* Auxins and cytokinins as antipodal modulators of elasticity within the actin network of plant cells // *Plant Physiol*. – 1996. – V. 110, No 3. – P. 965–970.
81. *Lang J.M., Eisinger W.R., Green P.B.* Effects of ethylene on the orientation of microtubules and cellulose microfibrils of pea epicotyls with polylamellate cell walls // *Protoplasma*. – 1982. – V. 110, No 1. – P. 5–14.
82. *Sakiyama M., Shibaoka H.* Effects of abscisic acid on the orientation and cold stability of cortical microtubules in epicotyl cells of the dwarf pea // *Protoplasma*. – 1990. – V. 157, No 1–3. – P. 165–171.
83. *Клячко Н.Л.* Фитогормоны и цитоскелет // *Физиол. раст.* – 2003. – Т. 50, № 3. – С. 475–480.
84. *Хохлова Л.П., Олиневич О.В., Макарова М.В., Бочкарева М.А.* Морфофизиологические изменения корней разных генотипов озимой пшеницы в связи с деструкцией цитоскелета // *Физиол. раст.* – 2006. – Т. 53, № 3. – С. 418–430.
85. *Olinevich O.V., Khokhlova L.P., Raudaskoski M.* The microtubule stability increases in abscisic acid-treated and cold-acclimated differentiating vascular root tissues of wheat // *J. Plant Physiol*. – 2002. – V. 159. – P. 465–472.
86. *Олиневич О.В., Хохлова Л.П.* Реорганизация тубулинового и актинового цитоскелета при закаливании растений *Triticum aestivum* L. к холоду и действию абсцизовой кислоты // *Цитология*. – 2002. – Т. 44, № 6. – С. 532–543.
87. *Олиневич О.В., Хохлова Л.П.* Влияние абсцизовой кислоты, низких температур и возраста растений на цитоскелетные и фосфорилированные белки // *Биохимия*. – 2003. – Т. 68, Вып. 6. – С. 828–839.
88. *Хохлова Л.П., Олиневич О.В.* Реорганизация цитоскелета в клетках *Triticum aestivum* при закаливании растений к холоду и действию абсцизовой кислоты // *Физиол. раст.* – 2003. – Т. 50, № 4. – С. 528–540.
89. *Veisz O., Galiba G., Sutka J.* Effect of abscisic acid on the cold hardiness of wheat seedlings // *J. Plant Physiol*. – 1996. – V. 149. – P. 439–443.
90. *Šamaj J., Baluška F., Voigt B., Schlicht M., Volkmann D., Menzel D.* Endocytosis, Actin Cytoskeleton, and Signaling // *Plant Physiol*. – 2004. – V. 135, No 3. – P. 1150–1161.

91. *Baluška F., Hlavacka A., Šamaj J., Palme K., Robinson D.G., Matoh T., McCurdy D.W., Menzel D., Volkmann D.* F-actin-dependent endocytosis of cell wall pectins in meristematic root cells: insights from brefeldin A-induced compartments // *Plant Physiol.* – 2002. – V. 130, No 1. – P. 422–431.
92. *Geldner N., Friml J., Stierhof Y.-D., Jürgens G., Palme K.* Auxin-transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking // *Nature.* – 2001. – V. 413, No 6854. – P. 425–428.
93. *Geldner N., Anders N., Wolters H., Keicher J., Kornberger W., Müller P., Delbarre A., Ueda T., Nakano A., Jürgens G.* The Arabidopsis GNOM ARF-GEF mediates endosomal recycling, auxin transport, and auxin-dependent plant growth // *Cell.* – 2003. – V. 112, No 2. – P. 219–230.
94. *Grebe M., Xu J., Möbius W., Ueda T., Nakano A., Geuze H.J., Rook M.B., Scheres B.* Arabidopsis sterol endocytosis involves actin-mediated trafficking via ARA6-positive early endosomes // *Curr. Biol.* – 2003. – V. 13, No 16. – P. 1378–1387.
95. *Ueda T., Nakano A.* Vesicular traffic: an integral part of plant life // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2002. – V. 5, No 6. – P. 513–517.
96. *Vernoud V., Horton A.C., Yang Z., Nieves E.* Analysis of the small GTPase gene superfamily of Arabidopsis // *Plant Physiol.* – 2003. – V. 131, No 3. – P. 1191–1208.
97. *Gu Y., Vernoud V., Fu Y., Yang Z.* ROP GTPase Regulation of Pollen Tube Growth through the Dynamics of Tip-Localized F-Actin // *J. Exp. Bot.* – 2003. – V. 54, No 380. – P. 93–101.
98. *Barth M., Holstein S.E.H.* Identification and functional characterization of Arabidopsis AP180, a binding-partner of plant α C-adaptin // *J. Cell Sci.* – 2004. – V. 117. – P. 2051–2062.
99. *Xu X., Bittman R., Duportail G., Heissler D., Vilchezes C., London E.* Effect of the structure of natural sterols and sphingolipids on the formation of ordered sphingolipid/sterol domains (rafts) // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V. 276, No 36. – P. 33540–33546.
100. *Lippincott-Schwartz J., Yuan L.C., Tipper C., Amherdt M., Orci L., Klausner R.D.* Brefeldin A's effects on endosomes, lysosomes and the TGN suggest a general mechanism for regulating organelle structure and membrane traffic // *Cell.* – 1991. – V. 67, No 3. – P. 601–616.
101. *Wood S.A., Brown W.J.* The morphology but not the function of endosomes and lysosomes is altered by brefeldin A // *J. Cell Biol.* – 1992. – V. 119, No 2. – P. 273–285.
102. *Baluška F., Šamaj J., Hlavacka A., Kendrick-Jones J., Volkmann D.* Actin-dependent fluid-phase endocytosis in inner cortex cells of maize root apices // *J. Exp. Bot.* – 2004. – V. 55, No 396. – P. 463–473.
103. *Kang B.-H., Busse J.S., Bednarek S.Y.* Members of the Arabidopsis dynamin-like gene family, ADL1, are essential for plant cytokinesis and polarized cell growth // *Plant Cell.* – 2003. – V. 15, No 4. – P. 899–913.
104. *Макарова М.В.* Морфофизиологические изменения корней озимой пшеницы в связи с деструкцией цитоскелета при действии индукторов морозоустойчивости: Автореф. канд. биол. наук. – Казань, 2007. – 25 с.
105. *Pelkmans L., Puntener D., Helenius A.* Local actin polymerization and dynamin recruitment in SV40-induced internalization of caveolae // *Science.* – 2002. – V. 296, No 5567. – P. 535–539.
106. *Orth J.D., McNiven M.A.* Dynamin at the actin-membrane interface // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2003. – V. 15, No 1. – P. 31–39.
107. *Kang B.-H., Rancour D.M., Bednarek S.Y.* The dynamin-like protein ADL1C is essential for plasma membrane maintenance during pollen maturation // *Plant J.* – 2003. – V. 35, No 1. – P. 1–15.
108. *Hong Z., Geisler-Lee J., Zhang Z., Verma D.P.S.* Phragmoplastin dynamics: multiple forms, microtubule association and their roles in cell plate formation in plants // *Plant Mol. Biol.* – 2003. – V. 53, No 3. – P. 297–312.

109. Šamaj J., Ovecka M., Hlavacka A., Lecourieux F., Meskiene I., Lichtscheidl I., Lenart P., Salaj J., Volkmann D., Bögre L., Baluka F., Hirt H. Involvement of the mitogen-activated protein kinase SIMK in regulation of root hair tip growth // EMBO. – 2002. – V. 21, No 13. – P. 3296–3306.
110. Šamaj J., Baluška F., Hirt H. From signal to cell polarity: mitogen-activated protein kinases as sensors and effectors of cytoskeleton dynamicity // J. Exp. Bot. – 2004. – V. 55, No 395. – P. 189–198.
111. Blancaflor E.B. Cortical actin filaments potentially interact with cortical microtubules in regulating polarity of cell expansion in primary roots of maize (*Zea mays* L.) // J. Plant Growth Regul. – 2000. – V. 19, No 4. – P. 406–414.
112. Tominaga M., Morita K., Yokota E., Shimmen T. Microtubules regulate the organization of actin filaments at the cortical region in root hair cells of *Hydrocharis* // Protoplasma. – 1997. – V. 199, No 1–2. – P. 83–92.
113. Lanerolle de P., Cole A.B. Cytoskeletal Proteins and Gene Regulation: Form, Function and Signal Transduction in the Nucleus // Sci. STKE. – 2002. – V. 139. – P. 30–35.
114. Giani S., Qin X., Faoro F., Bleviario D. In Rice, Oryzalin and Abscisic Acid Differentially Affect Tubulin mRNA and Protein Levels // Planta. – 1998. – V. 205, No 3. – P. 334–341.
115. Hoffman K.C., Vaughn K.C. Mitotic Disrupters Act by a Single Mechanism but Vary in Efficacy // Protoplasma. – 1994. – V. 179, No 1–2. – P. 16–25.
116. Кундельчук О.П., Тарасенко Л.В., Блюм Я.Б. Сравнение действия амипрофос-метила на структуру клеток корня у чувствительных и устойчивых к нему линий *Nicotiana plumbaginifolia* // Физиол. раст. – 2002. – Т. 49, № 3. – С. 425–430.
117. Volkmann D., Baluska F. Actin Cytoskeleton in Plants: From Transport Networks to Signaling Networks // Microsc. Res. Tech. – 1999. – V. 47, No 2. – P. 135–154.
118. Qiu J.-L., Jilk R., Marks M.D., Szymanski D.B. The Arabidopsis SPIKE1 Gene Is Required for Normal Cell Shape Control and Tissue Development // Plant Cell. – 2002. – V. 14, No 1. – P. 101–118.
119. Frank M.J., Smith L.G. A Small, Novel Protein Highly Conserved in Plants and Animals Promotes the Polarized Growth and Division of Maize Leaf Epidermal Cells // Curr. Biol. – 2002. – V. 12, No 10. – P. 849–853.

Поступила в редакцию
10.10.10

Хохлова Людмила Петровна – доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии и биотехнологии растений Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: Ludmila.Khokhlova@ksu.ru

Невмержицкая Юлия Юрьевна – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры физиологии и биотехнологии растений Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: nuu76@mail.ru