

ЛЕКЦІЯ В ЖУРНАЛІ

УДК 577.2

ФОСФОЛИПИДНИЙ СИГНАЛІНГ У РАСТЕНИЙ

© 2014 г. В. Ю. Джамеев

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

(Харьков, Украина)

Представлен материал об основных группах фосфолипаз, их функционировании и роли во внутриклеточном сигналинге у растений. Излагаются современные представления о механизмах передачи сигнала с участием фосфолипаз D, C и A₂. Описаны продукты гидролиза фосфолипидов, имеющие сигнальное значение, их метаболизация и предположительные мишени.

Ключевые слова: *фосфолипазы, внутриклеточный сигналинг, фосфоинозитиды, инозитолфосфаты, фосфатидная кислота, жасмонаты, октадеканойдный путь*

Передача сигнала внутри клетки от рецепторов до конечных мишеней осуществляется посредством большого количества разнообразных сигнальных посредников. Среди них важное место занимают эффекторные молекулы, или эффекторы – компоненты сигнальных систем, которые участвуют в образовании внутриклеточных низкомолекулярных посредников – вторичных мессенджеров (Тарчевский, 2002; Крутецкая и др., 2003; Колупаев, Карпец, 2010).

Большую группу эффекторов составляют несколько семейств фосфолипаз. Фосфолипазы – это ферменты, катализирующие гидролиз определенных эфирных связей в молекулах фосфолипидов. Согласно расположению гидролизуемой связи различают пять классов фосфолипаз (PLD, PLC, PLA₁, PLA₂ и PLB). В качестве отдельной группы выделяют ферменты, катализирующие расщепление лизофосфолипидов – лизофосфолипазы (Wang, 2001; Meijer, Munnik, 2003).

Сайты и продукты расщепления (рис. 1):

- фосфолипазы D (PLD) – терминальная фосфоэфирная связь, продукты: фосфатидная кислота и головная спиртовая группа;

- фосфолипазы C (PLC) – глицерофосфатная эфирная связь, продукты: диацилглицерол и фосфорилированный спирт;
- фосфолипазы A₁ (PLA₁) – *sn*-1 ацилэфирная связь, продукты: свободная жирная кислота и 1-лизо-2-ацилфосфолипид;
- фосфолипазы A₂ (PLA₂) – *sn*-2 ацилэфирная связь, продукты: свободная жирная кислота и 1-ацил-2-лизофосфолипид;
- фосфолипазы B (PLB) – *sn*-1 и *sn*-2 ацилэфирные связи, продукты: свободные жирные кислоты и 3-фосфоглицерол;
- лизофосфолипазы A (lysoPLA) – *sn*-1 или *sn*-2 ацилэфирная связь в молекулах лизофосфолипидов, продукты: свободная жирная кислота и 3-фосфоглицерол.

В сигнальных механизмах наиболее важными являются фосфолипазы C, D и A₂ (Тарчевский, 2002). Активность всех этих фосфолипаз приводит к образованию целого ряда вторичных мессенджеров, участвующих в модуляции активности компонентов каскадных сигнальных систем.

Фосфолипазы A₁ и B, а также лизофосфолипазы A катализуют синтез различных соединений. Основные продукты катализа – лизофосфолипиды – присутствуют в биологических мембранах в незначительных количествах, но, по-видимому, выполняют важные регуляторные функции. В растениях лизофосфолипиды образуются в ответ на стрессовые воздействия и модулируют активность ряда клеточ-

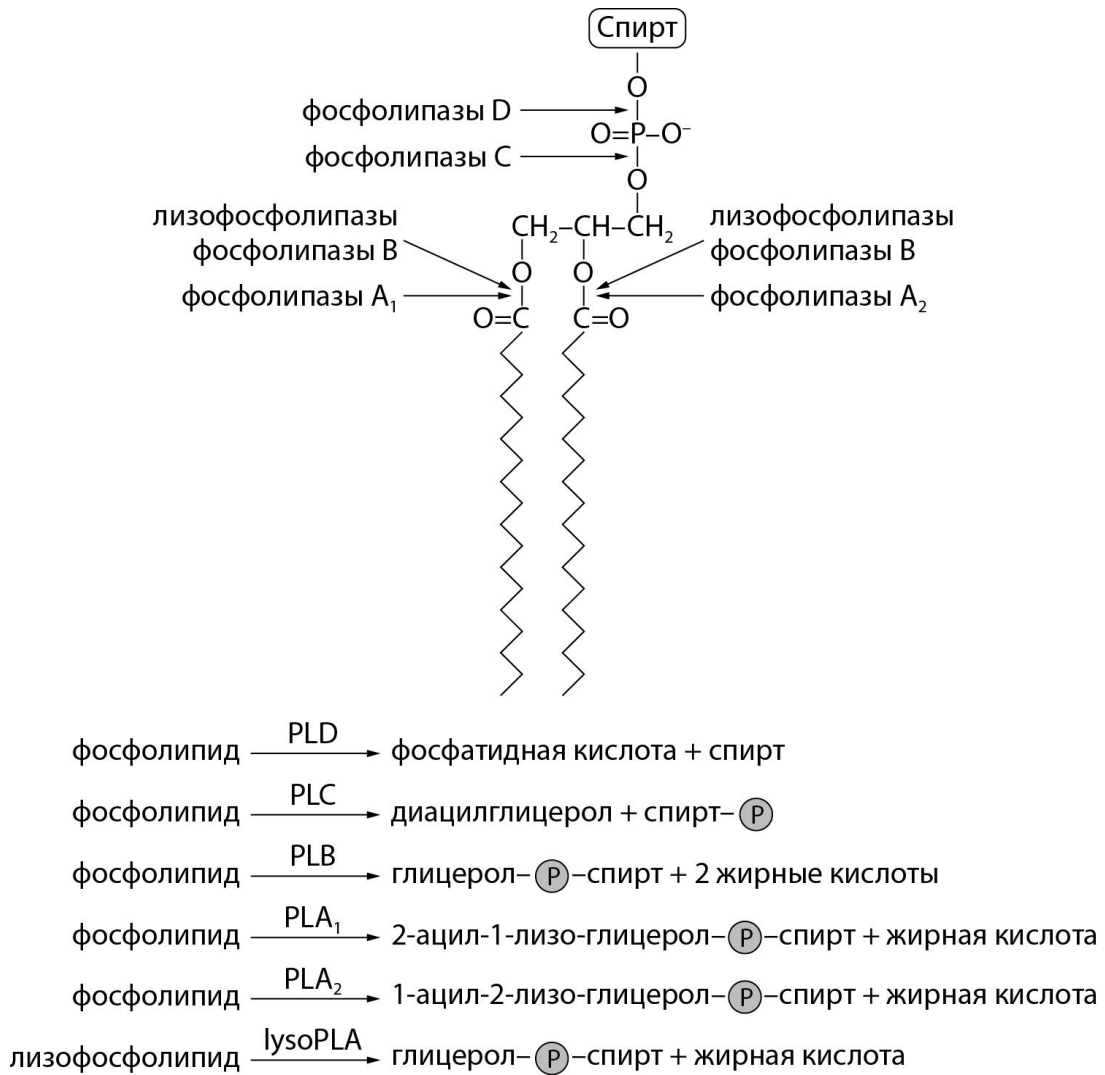


Рис. 1. Сайты действия фосфолипаз на фосфолипиды и продукты реакций.

ных компонентов. Лизофосфатидилхолин, например, может непосредственно взаимодействовать с H⁺-АТФазой плазматической мембраны, стимулируя ее активность (Gomes et al., 1996). Лизофосфатидилэтаноламин задерживает старение, как предполагают, путем ингибирования PLD (Ryu et al., 1997). Лизофосфолипазы, следовательно, являются важными компонентами, участвующими в регуляции содержания лизофосфолипидов, липидном сигнальном каскаде и метаболизме. Значение этих ферментов и продуктов их каталитической активности в настоящее время интенсивно исследуется.

Фосфолипазы D

Каталитическая активность фосфолипаз D (PLD) наблюдается на разных этапах онтогенеза растений и имеет важное значение при широком спектре абиотических и биотических стрессовых воздействий. PLD выполняют центральную роль в стрессовых реакциях расте-

ний, в которых опосредуют действие стрессовых гормонов (АБК, жасмоната, этилена), а также продукцию этих регуляторов (Wang, 1999).

Фосфолипазы D отщепляют терминальную фосфоэфирную связь фосфолипида. Продуктами расщепления являются фосфатидная кислота и водорастворимая головная группа (спирт) (Munnik, 2001) (рис. 2). Эти ферменты обладают уникальным свойством: в присутствии первичных спиртовых групп они могут переносить фосфатидил на спирты с образованием соответствующих фосфатидилалкоголей (Meijer, 2003). Подобная обратимость катализируемой реакции для других фосфолипаз не характерна.

Согласно субстратной специфичности и требованиям двухвалентных ионов фосфолипазы D подразделяют на три группы (Wang, 2000):

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СИГНАЛИНГ У РАСТЕНИЙ

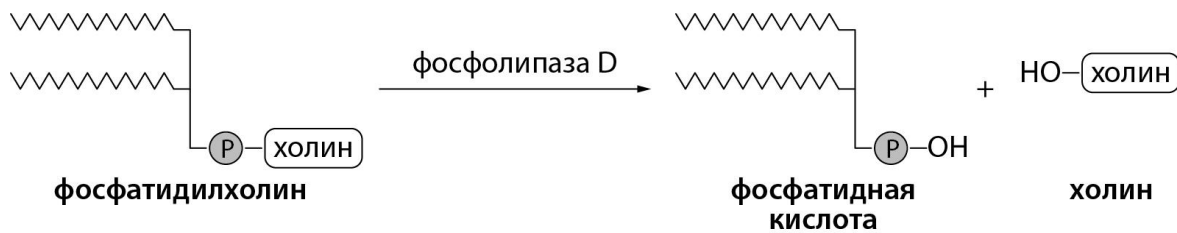


Рис. 2. Реакция, катализируемая фосфолипазой D.

1) обычные PLD имеют максимальную активность при миллимолярной концентрации Ca^{2+} (20-100 мМ);

2) полифосфоинозитид-зависимые PLD наиболее активны при микромолярном уровне Ca^{2+} и специфичны к фосфатидилинозитолполифосфатам;

3) фосфатидилинозитол-специфичные фосфолипазы D являются Ca^{2+} -независимыми.

В растениях преобладают обычные PLD. Помимо главных трех классов, основанных преимущественно на требовании, ионов Ca^{2+} , PLD разделяют на группы согласно аминокислотной последовательности, архитектуре генов и биохимических свойств. Так у *Arabidopsis* выделено пять классов: PLD α , β , γ , δ и ϵ . Большинство PLD, идентифицированных у арабидопсиса и других видов растений, принадлежит к классу PLD α (Wang, 2000).

Полифосфоинозитид-зависимые PLD были охарактеризованы в *Arabidopsis* (Parra et al., 1997), а фосфатидилинозитол-специфичные PLD – в *Catharantus roseus* (катарантус розовый, в цветоводстве известный больше как барвинок розовый) (Wissing et al., 1996).

Катализ. Ферменты суперсемейства PLD гидролизуют P-O связи путем двухшаговой пинг-понг реакции, в процессе которой фосфатидил сначала присоединяется к ферменту (то есть вовлекается фосфатидил-ферментный посредник). Для нуклеофильной атаки фосфорной группы субстрата фосфолипазы D используют консервативный остаток гистидина (Stuckey, Dixon, 1999).

Субстратная специфичность. Большинство растительных PLD имеют широкую субстратную специфичность, проявляя при этом предпочтение определенному типу субстрата. Например, PLD α , β и γ утилизируют фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин и фосфатидилглицерол. Однако PLD α сильно отличается от PLD β и γ по требуемому уровню Ca^{2+} . Кроме того, PLD β и γ , в отличие от PLD α , гидролизуют также фосфатидилсерин и N-ацил-фосфатидилэтаноламин. Ни одна из Ca^{2+} -

зависимых PLD не расщепляет фосфатидилинозитол, фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат и кардиолипин. Тогда как Ca^{2+} -независимые PLD, наоборот, гидролизуют фосфатидилинозитол, но не действуют на фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин.

Активация. Активность PLD зависит от многих факторов – концентрации Ca^{2+} , липидного состава, pH, инозитолфосфатов и др. Наиболее важным фактором для обычных PLD, главным образом для PLD α , являются ионы Ca^{2+} . На N-терминальном участке молекул растительных Ca^{2+} -зависимых PLD расположен Ca^{2+} /фосфолипид-связывающий участок, называемый C2-доменом. Этот домен типичен только для растительных PLD. Связывание Ca^{2+} способствует изменению конформации молекулы, которое необходимо для повышения сродства фермента к мембранным липидам (Zheng et al., 2000).

Механизм активации PLD предполагает связывание молекулы фермента с мембраной. Растворимая фракция PLD неактивна. Важным фактором активации PLD являются осцилляции Ca^{2+} . Ионы Ca^{2+} повышают аффинность C2-домена к мембранным фосфолипидам. Считается, что именно C2-домен является ответственным за внутриклеточную транслокацию PLD. Усиление связывания PLD с мембранами может представлять собой быстрый и ранний этап активации фермента в условиях стресса (Wang C. et al., 2000).

Исследование уровня экспрессии генов показало, что различные изоформы PLD имеют неодинаковое значение в стрессовом ответе. В условиях недостаточного водоснабжения стимулируется экспрессия PLD α . Экспрессия и активность других видов PLD при водном стрессе не изменяется. При механическом повреждении листьев *Arabidopsis* возрастает экспрессия генов PLD β , PLD γ 1 и PLD γ 2, тогда как активность PLD α возрастает за счет повышения аффинности предсуществующего фермента к мембране (Parra et al., 1998). Относительный уровень экспрессии различных PLD отличается у *Arabidopsis* при воздействии пониженной

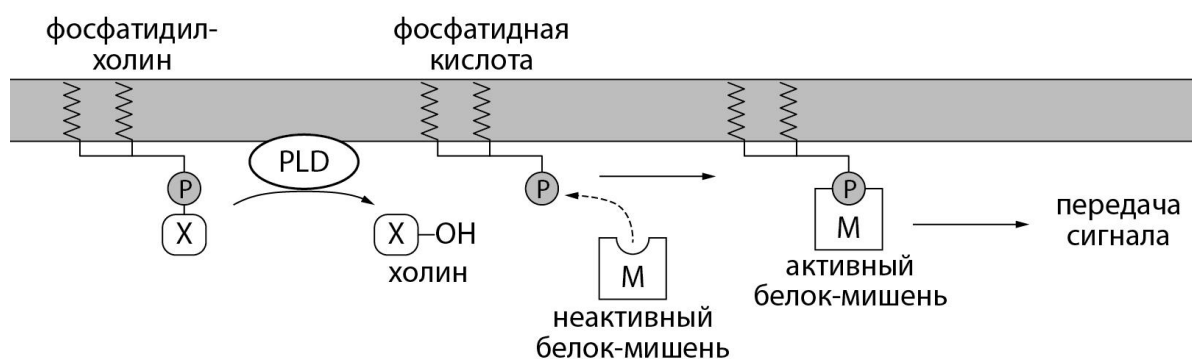


Рис. 3. Передача сигнала с участием фосфолипазы D.

температуры, тяжелых металлов, соли, засухи, а также стрессовых гормонов – АБК и жасмоновой кислоты (Wang X. et al., 2000). Кроме того, одни PLD постоянно присутствуют в клетках, а другие являются индуцируемыми (Frank et al., 2000).

Передача сигнала. Продукт каталитической активности PLD – фосфатидная кислота – модулирует активность множества мишеней. Фосфатидная кислота взаимодействует не только с мембранными мишенями, но и способствует связыванию с мембранами многих цитоплазматических белков (рис. 3).

К мишеням фосфатидной кислоты относятся протеиновые и липидные киназы, фосфатазы, фосфолипазы и другие ферменты, а также ионные каналы (Wang, 2001). Например, фосфатидной кислотой активируется фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназа – фермент, катализирующий образование фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата. Данное соединение является субстратом и при этом главным фактором активации полифосфоинозитид-специфичных фосфолипаз C. Также считают, что фосфатидная кислота способна непосредственно взаимодействовать с фосфолипазами C и A₂ и модулировать их активность, влияя на интенсивность синтеза низкомолекулярных регуляторов. Таким образом, активация PLD и последующее образование фосфатидной кислоты приводят к стимулированию сигнальных систем, опосредованных фосфолипазами C и A₂, в том числе октадеканойдный путь (см. далее).

PLD α имеет решающее значение в регуляции закрывания устьиц, индуцируемого АБК при водном стрессе. В замыкающих клетках АБК активирует PLD α , а образующаяся при этом фосфатидная кислота регулирует дальнейшие события, которые приводят к ингибированию поглощающих K⁺-каналов и закрыванию устьиц (Jacob et al., 1999).

Фосфолипазы C

Фосфолипазы C (PLC) гидролизуют глицерофосфатную эфирную связь фосфолипидов, в процессе чего образуются диацилглицерол (ДАГ) и водорастворимая фосфорилированная головная группа (Munnik et al., 1998) (рис. 4).

Фосфолипазы C являются цитоплазматическими мономерными белками. Молекулярные структуры различных изоформ имеют сходные и уникальные черты. На N-концах полипептидных цепей всех фосфолипаз C локализованы участки, необходимые для присоединения фермента к мембране. C-концевая область обеспечивает дополнительные участки связывания молекулы с мембраной и выполняет регуляторные функции: через нее осуществляется взаимодействие с регуляторными белками. Два консервативных домена формируют в молекулах PLC каталитический центр. Причем эти домены могут быть расположены близко друг к другу или разделены большой аминокислотной последовательностью, которая включает участки, необходимые для связывания с регуляторными белками (Hernández-Sotomayor et al., 1999).

По субстратной специфичности и функциям можно выделить три группы PLC (Wang, 2001):

- 1) полифосфоинозитид-специфичные PLC (гидролизуют фосфатидилинозитолполифосфаты);
- 2) неспецифичные PLC (действуют на фосфатидилхолин и ряд других фосфолипидов, поскольку ферменты этой группы преимущественно расщепляют фосфатидилхолин, их также называют фосфатидилхолин-специфичные PLC);
- 3) гликозилфосфатидилинозитол-специфичные PLC (GPI-PLC) отщепляют белки (гликопротеины), заякоренные на мембранах с помощью гликозидных связей через фосфати-

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СИГНАЛИНГ У РАСТЕНИЙ

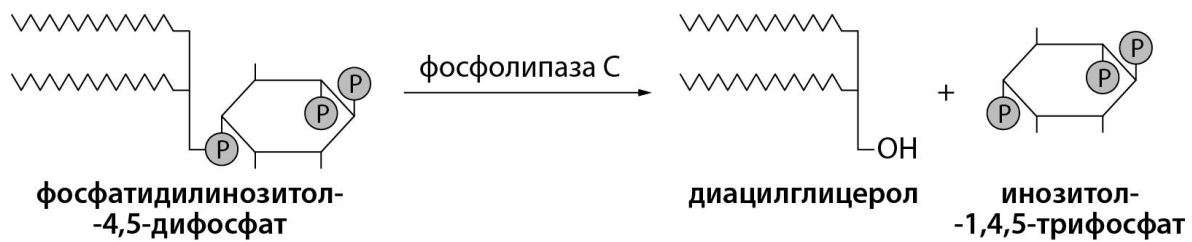


Рис. 4. Реакция, катализируемая фосфолипазой C.

дилинозитол. GPI-заякоренные белки являются экстраклеточными и функционируют в качестве ферментов (фосфатазы, нитратредуктазы), рецепторов, взаимодействующих с экстраклеточными лигандами, или матричных белков клеточной стенки (арабиногалактанпротеин).

Среди фосфолипаз C полифосфоинозитид-специфичные PLC (PI-PLC) занимают центральное положение в сигнальных механизмах.

Полифосфоинозитид-зависимые фосфолипазы C

Регуляция активности. Все растительные PI-PLC содержат домены X (≈ 170 а/к) и Y (≈ 260 а/к), необходимые для фосфоэстеразной активности, а также C2-домен на C-терминальном участке молекулы, через который осуществляется Ca^{2+} -зависимое связывание фосфорилированных форм фосфатидилинозитола. В молекуле растительных PI-PLC помимо каталитического центра нет иных специализированных участков для связывания с мембраной. Дополнительными участками взаимодействия PI-PLC с мембранами могут служить мембраносвязанные сигнальные молекулы, через которые осуществляется активация и регуляция активности фосфолипаз.

Растительные PI-PLC – Ca^{2+} -зависимые ферменты. Ионы Ca^{2+} необходимы не только для эффективного связывания фермента с мембраной, но также влияют на катализ (Hernández-Sotomayor et al., 1999). В клетках растений обнаружена активность PI-PLC, ассоциированная с мембранами и в растворимой фракции. Для первой характерна активность при микромолярных концентрациях Ca^{2+} , а для второй – при миллимолярных. Эта особенность является доказательством того, что активность PI-PLC модулируется помимо всего субклеточной локализацией фосфолипаз C.

В механизме регуляции активности PI-PLC важным является поддержание определенного уровня различных изоформ этих ферментов в тканях (Корка et al., 1998). В разных тканях наблюдается различный уровень экспрес-

сии генов PI-PLC. Кроме того, гены, кодирующие PI-PLC, дифференциально экспрессируются при соответствующих внешних условиях. Например, при засухе в листьях картофеля уровень транскриптов PLC1 понижается, PLC2 повышается, а PLC3 остается неизменным.

Фосфатидилинозитол и его производные

Полифосфоинозитид-зависимые фосфолипазы C расщепляют разные виды фосфатидилинозитидов. Не все эти субстраты имеют сигнальное значение. Ряд ферментов, которые контролируют синтез и фосфорилирование фосфатидилинозитолов, следует рассматривать в качестве сигнальных энзимов, поскольку от их активности зависит концентрация предшественников вторичных мессенджеров, а следовательно, эффективность сигнальных механизмов.

Синтез инозитола и фосфатидилинозитола. В растениях обнаружено девять стереоизомеров шестиатомного циклического спирта инозитола (Loewus, Murthy, 2000). Самый распространенный из них – *мио*-инозитол. Этот изомер входит в состав мембранных липидов и является основой сигнальных инозитолфосфатов. Синтез *мио*-инозитола осуществляется из глюкозо-6-фосфата. Сначала *мио*-инозитол-1-фосфат-синтаза (глюкозо-6-фосфат-циклоальдолаза) катализирует образование *мио*-инозитол-1-фосфата, который затем дефосфорилируется инозитол-1-фосфатазой до *мио*-инозитола (рис. 5). Под действием фосфатидилинозитол-синтазы *мио*-инозитол включается в состав фосфатидилинозитола (PI) – полярного мембранного липида (Lofke et al., 2008). В этой реакции фосфатидная кислота переносится от цитидилдифосфат-диацилглицерола на *мио*-инозитол. Затем фосфатидилинозитол подвергается ковалентным модификациям путем фосфорилирования и дефосфорилирования. Фосфорилированные формы PI расщепляются сигнальными полифосфоинозитид-зависимыми фосфолипазами C.

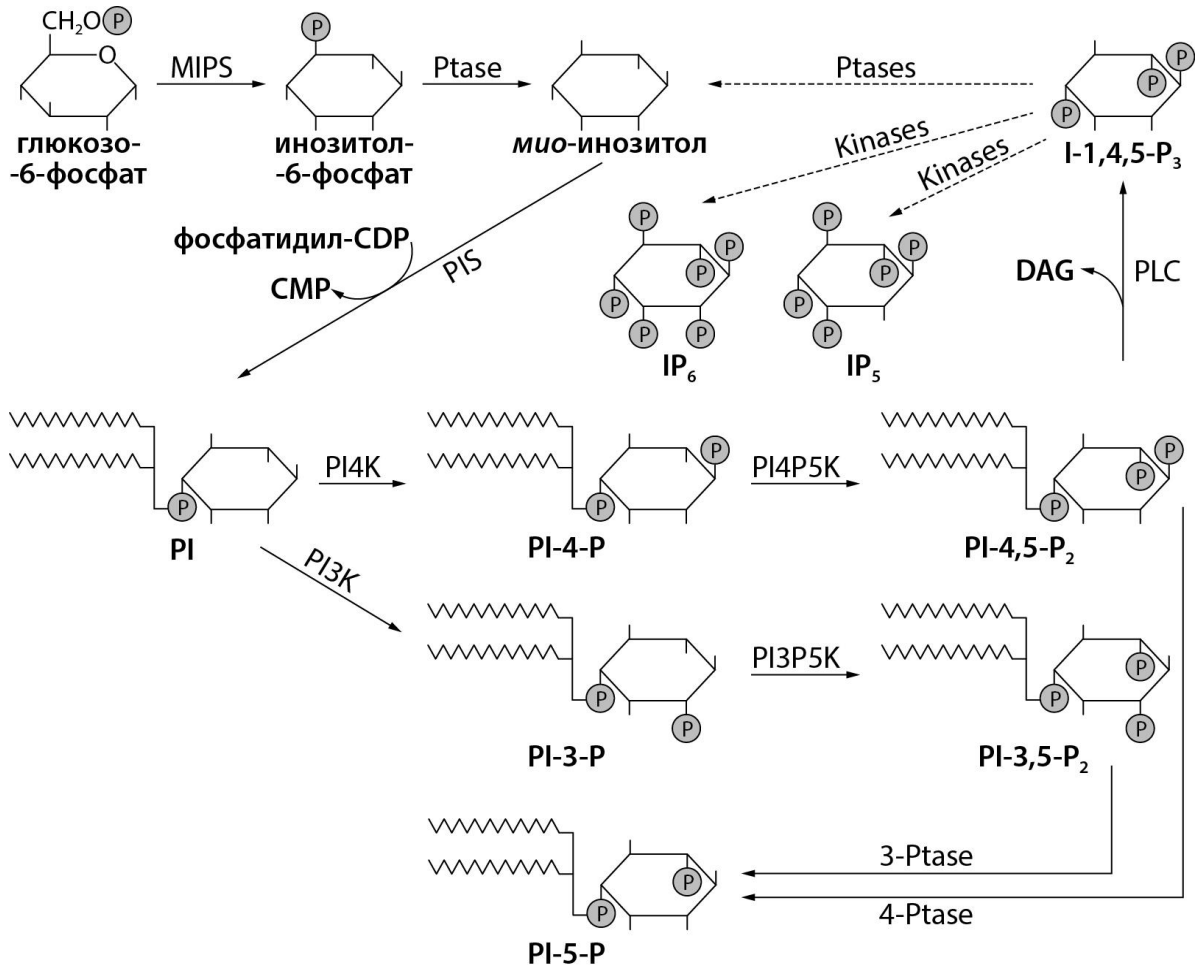


Рис. 5. Синтез инозитола и фосфатидинозитол-фосфатов у растений.

Условные обозначения: 3-Ptase – инозитоллипид-3-фосфатаза; 4-Ptase – инозитоллипид-4-фосфатаза; CDP – цитидиндифосфосфат; CMP – цитидинмонофосфосфат; DAG – диацилглицерол; I-1,4,5-P₃ – инозитол-1,4,5-трифосфат; IP₅ – инозитол-пентакисфосфат (инозитол-1,2,4,5,6-пентафосфат); IP₆ – инозитол-гексакисфосфат (инозитол-1,2,3,4,5,6-гексафосфат); Kinases – киназы; MIPS – мио-инозитол-1-фосфат-синтаза; PI – фосфатидинозитол; PI-3,5-P₂ – фосфатидинозитол-3,5-дифосфат; PI3K – фосфатидинозитол-3-киназа; PI-3-P – фосфатидинозитол-3-фосфат; PI3P5K – фосфатидинозитол-3-фосфат-5-киназа; PI-4,5-P₂ – фосфатидинозитол-4,5-дифосфат; PI4K – фосфатидинозитол-4-киназа; PI-4-P – фосфатидинозитол-4-фосфат; PI4P5K – фосфатидинозитол-4-фосфат-5-киназа; PI-5-P – фосфатидинозитол-5-фосфат; PIS – фосфатидинозитол-синтаза; PLC – фосфолипаза C; Ptase – фосфатаза.

Модификация фосфатидинозитола.

Инозитольное кольцо фосфатидинозитола фосфорилируется по положениям 3, 4 и 5 специфическими киназами. Субстратная специфичность этих киназ и наборы продуктов фосфорилирования у растений и животных в некотором отношении сходны, однако не являются абсолютно идентичными. Например, у растений фосфатидинозитол может быть одновременно фосфорилирован только по двум положениям (преимущественно 4 и 5 или 3 и 5), тогда как в клетках животных присутствуют трижды фосфорилированный PI по положениям 3, 4 и 5. Второе различие заключается в том, что у

растений инозитол по положению 3 фосфорилируется только в составе фосфатидинозитола, но не его фосфорилированных производных – фосфатидинозитолфосфатов (фосфатидинозитидов).

В образовании определенных форм фосфатидинозитолфосфатов принимают участие также специфические фосфатазы, удаляющие фосфорные группы из молекул фосфатидинозитидов. Согласованная работа киназ, фосфатаз, а также фосфолипаз способствует поддержанию в клетках определенных количеств соединений, необходимых для функционирования многих клеточных процессов, таких как

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СИГНАЛИНГ У РАСТЕНИЙ

формирование, транспорт и докирование везикул, привлечение к мембране и модуляция активности ферментов и регуляторных белков, а также передача внутриклеточного сигнала и многих других.

Фосфатидилинозитол-3-фосфат (PI-3-P) важен для трафика везикул к вакуоли, пролиферации клеток и организации цитоскелета (Kim et al., 2001; Dove et al., 1994). Кроме того, PI-3-P является важным промежуточным продуктом синтеза фосфатидилинозитол-3,5-дифосфата (PI-3,5-P₂). Образование PI-3-P у растений катализируется фосфатидилинозитол-3-киназой, которая фосфорилирует PI до фосфатидилинозитол-3-фосфата (рис. 5). Рассматривается также сигнальная роль PI-3-P. Считается, что это соединение, регулируя уровень АФК в клетках, опосредует механизм АБК-индуцируемого открывания устьиц (Park et al., 2003).

Фосфатидилинозитол-4-фосфат (PI-4-P) является преобладающей формой полифосфоинозитидов у растений (Boss et al., 2008). PI-4-P участвует во внутриклеточной ротации мембранного материала (Preuss et al., 2006). Синтезируется из фосфатидилинозитола фосфатидилинозитол-4-киназой (PI4K) (рис. 5). О важности роли этого соединения свидетельствует тот факт, что «нок-аут» мутация по одному из генов PI4K у *Arabidopsis AtPI4Kb* приводит к ингибированию везикулярного транспорта на 50%. Известны две группы ферментов фосфатидилинозитол-4-киназ: мембраносвязанные (45-55 kD) и более высокомолекулярные, преимущественно растворимые (110-210 kD). У растений найдены только мембраносвязанные фосфатидилинозитол-4-киназы (Mueller-Roeber, Pical, 2002).

Фосфатидилинозитол-5-фосфат (PI-5-P). Функции этого соединения у растений окончательно не выяснены. Образуется PI-5-P путем дефосфорилирования фосфатидилинозитол-3,5-дифосфата (PI-3,5-P₂) или фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата (PI-4,5-P₂) (рис. 5). Содержание PI-5-P у растений намного выше, чем у животных. Если в животных системах концентрация PI-5-P, как правило, не превышает 2% от общего содержания фосфатидилинозитолфосфатов, то у растений может варьировать в пределах от 3 до 18% (Meijer, Munnik, 2003).

Фосфатидилинозитол-3,5-дифосфат (PI-3,5-P₂) синтезируется из фосфатидилинозитол-3-фосфата (PI-3-P) фосфатидилинозитол-3-фосфат-5-киназой (Mueller-Roeber, Pical, 2002)

(рис. 5). PI-3,5-P₂ принимает участие в функционировании вакуоли. Это соединение используется для привлечения и слияния везикул с тонопластом. При осмотическом стрессе, уменьшается объем вакуоли и, соответственно площадь поверхности тонопласта. Это отражается на эффективности работы трансмембранных переносчиков и поддержании трансмембранного градиента протонов на тонопласте. В качестве компенсаторного механизма у дрожжей наблюдается фрагментация вакуоли на несколько частей. Так увеличивается суммарная площадь вакуолярной мембраны. У мутантов, не синтезирующих PI-3,5-P₂, данный механизм нарушен. Кроме того, этот липид стимулирует активность вакуолярной H⁺-АТФазы. Таким образом, с участием PI-3,5-P₂ контролируется целостность/фрагментарность вакуоли и поддерживается тонопластный градиент протонов на соответствующем уровне. Считается, что подобный механизм функционирует у растений (Meijer et al., 1999).

Фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат (PI-4,5-P₂) является источником инозитол-1,4,5-трифосфата (IP₃), который образуется при расщеплении этого липида фосфолипазой С. Синтез PI-4,5-P₂ катализируется фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназой из фосфатидилинозитол-4-фосфата (PI-4-P) (Im et al., 2007) (рис. 5). Предположительно в геноме *Arabidopsis* кодируется 9 генов PI-4-P-5-киназы (Mueller-Roeber, Pical, 2002). Уровень активности этих ферментов является существенным для функционирования фосфолипаза С-зависимого сигналинга. Активность PI-4-P-5-киназы значительно возрастает при изменении внешних условий. Содержание PI-4,5-P₂ в клетках высших растений на порядок ниже, чем у животных. Однако это вовсе не означает меньшую значимость данного соединения для растений. Низкое содержание PI-4,5-P₂ поддерживается исключительно за счет высокой активности фосфолипазы С в условиях, при которых стимулируется данная сигнальная система. Концентрация субстрата является основным фактором регуляции активности многих изоформ растительных фосфолипаз С, и в ряде случаев помимо повышения концентрации PI-4,5-P₂ и оптимальной концентрации ионов Ca²⁺ не требуется иных механизмов активации этих ферментов. Эти особенности регуляции обеспечивают высокую чувствительность фосфолипаза С-зависимой сигнальной системы (Boss, Im, 2012).

Сигнальная роль PI-4,5-P₂ определяется не только тем, что он является предшественни-

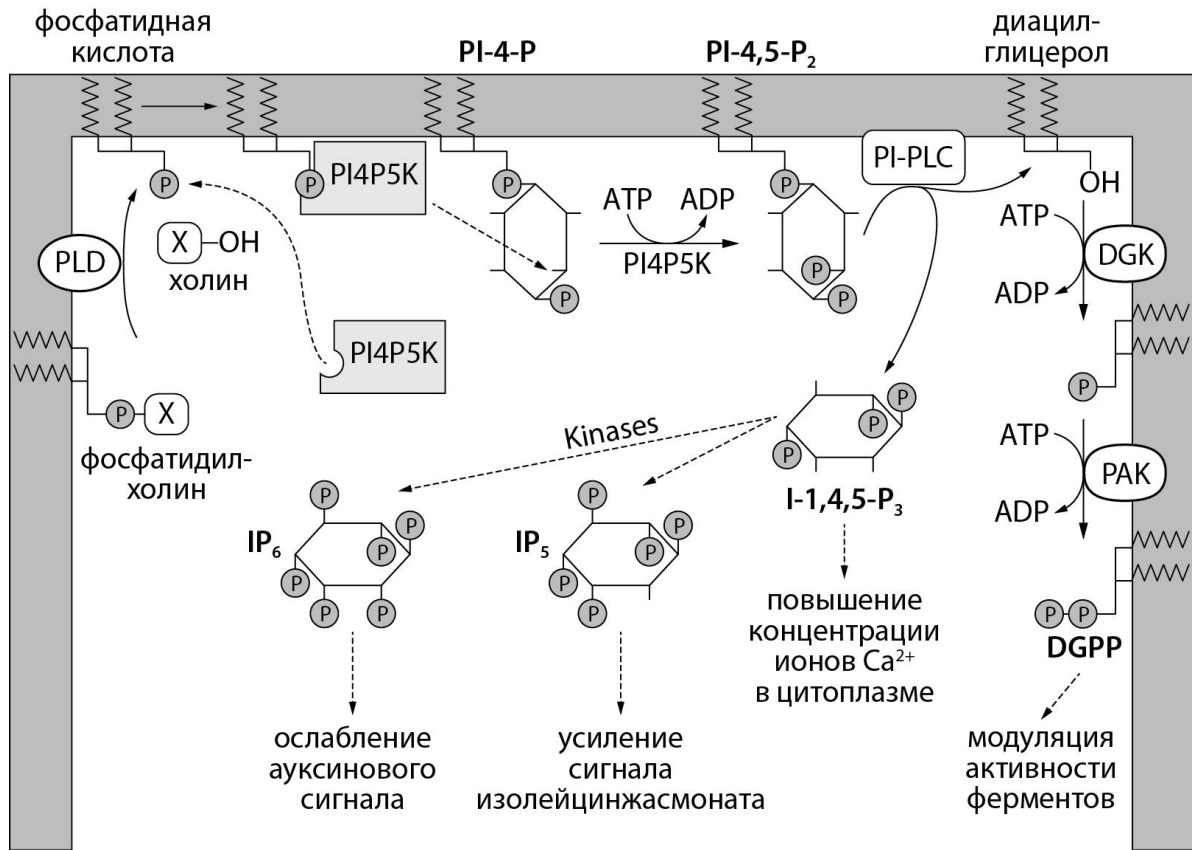


Рис. 6. Сигнальный механизм опосредованный фосфолипазами D и C.

Условные обозначения: DGK – диацилглицеролкиназа; DGPP – диацилглицерол-пирофосфат; I-1,4,5-P₃ – инозитол-1,4,5-трифосфат; IP₅ – инозитол-пентакисфосфат (инозитол-1,2,4,5,6-пентафосфат); IP₆ – инозитол-гексакисфосфат (инозитол-1,2,3,4,5,6-гексафосфат); PAK – фосфатидаткиназа; PI PLC – полифосфоинозитид-специфичная фосфолипаза C; PI-4,5-P₂ – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат; PI-4-P – фосфатидилинозитол-4-фосфат; PI4P5K – фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназа.

ком вторичного мессенджера IP₃. Некоторые факторы транскрипции докируются к плазматической мембране через PI-4,5-P₂. Активация фосфолипазы C приводит к высвобождению регуляторов генной активности, после чего они мигрирует в ядро и модулируют активность генов (Santagata, et al., 2001).

Помимо сигнальной роли, предполагается участие PI-4,5-P₂ в транспорте везикул. Это соединение, по-видимому, регулирует динамическое состояние актина через профилин (G-актин связывающий белок). Локальное накопление PI-4,5-P₂ на плазмалемме способствует направленному экзоцитозу, в результате которого клетка будет расти в определенном направлении. Подобный механизм с участием PI-4,5-P₂ осуществляется при формировании корневых волосков (Braun et al., 1999) и прорастании пыльцы (Kost et al., 1999).

PI-PLC опосредованный сигналинг

Сигнальный механизм с участием PI-PLC является важным для ответа растений на раз-

личные стимулы, включая осмотический стресс, АБК, свет, гравитацию, воздействие патогенов и загрязнение. Под действием этих факторов стимулируется активность полифосфоинозитид-специфичной фосфолипазы C и фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназы (PI4P5K) ключевого фермента синтеза фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата – субстрата PI-фосфолипазы C. На функционирование этого сигнального пути в значительной степени влияет фосфолипаза D. Продукт катализа PLD – фосфатидная кислота – непосредственно взаимодействует с фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназой (PI4P5K) и активирует ее (рис. 6). Увеличение концентрации фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата является основным фактором активации PI-PLC (Liscovitch et al., 2000).

PI-PLC расщепляет фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат (PIP₂) на инозитол-1,4,5-трифосфат (IP₃) и диацилглицерол (DAG) (рис. 6). У животных IP₃ связывается с IP₃-стимулируемыми Ca²⁺-каналами (IP₃-рецепто-

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СИГНАЛИНГ У РАСТЕНИЙ

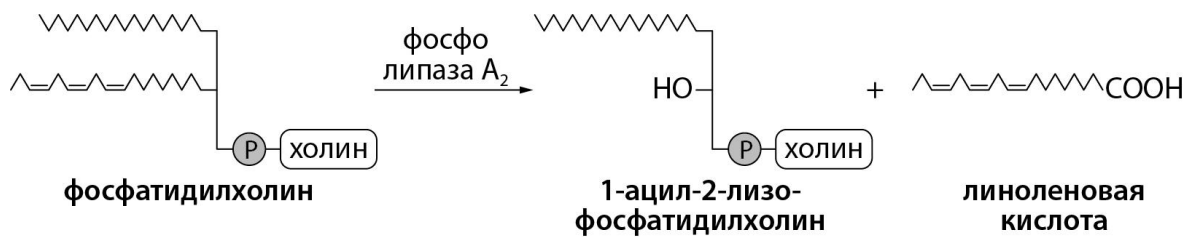


Рис. 7. Реакция, катализируемая фосфолипазой A_2 .

рами), локализованными на мембранах ЭПР и стимулирует высвобождение ионов Ca^{2+} , а DAG участвует в активации протеинкиназы С. В растениях не обнаружены гомологи мишеней IP_3 животных – IP_3 -рецепторы и протеинкиназы С. Вместе с тем, существуют доказательства того, что мобилизация ионов Ca^{2+} и их осцилляции играют важную роль в PI-PLC опосредованном сигнальном пути (Hunt et al., 2004). В настоящее время не известен точный механизм кальциевых осцилляций в PI-PLC опосредованном каскаде растений. Если IP_3 -чувствительные Ca^{2+} -каналы присутствуют в растительных клетках, то они принципиально отличаются по структуре от подобных молекул животных.

Повышение уровня ионов Ca^{2+} в цитоплазме под влиянием PI-PLC, в свою очередь способствует стимулированию PLD. Ионы Ca^{2+} способствуют связыванию PLD с мембранами, в результате чего этот фермент активируется (Zheng et al., 2000). Таким образом, ферменты PI-PLC, PLD и PI4P5K создают позитивную регуляторную петлю.

Помимо того, что расщепление фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата приводит к синтезу различных регуляторов (вторичных мессенджеров), снижение уровня фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата под действием PI-PLC оказывает регуляторное действие иного плана. Во-первых, PI-4,5- P_2 является регулятором ряда мембраносвязанных ферментов, во-вторых, это соединение может служить сайтом для прикрепления к мембране некоторых функциональных белков, в том числе, белков цитоскелета, ферментов, регуляторов транскрипции. Расщепление PI-4,5- P_2 приводит к высвобождению таких белков, что способствует изменению их локализации и отражается на активности. Например, через PI-4,5- P_2 к мембране присоединяется регулятор генной активности Tubby. Высвобождение этого регулятора в результате активации фосфолипазы С позволяет белку мигрировать в ядро и участвовать в модуляции экспрессии специфических генов (Santagata, et al., 2001).

Производные инозитол-1,4,5-трифосфата. Увеличение концентрации IP_3 в растительных клетках вследствие активации PI-PLC стимулирует появление различных высокофосфорилированных форм инозитола (IP_x) (рис. 5, 6). У растений, в отличие от животных, функционируют многочисленные киназы и фосфатазы, которые принимают участие в метаболизации IP_3 . Согласованная работа этих ферментов направлена на поддержание пула IP_x в определенном соотношении. Для некоторых из этих соединений установлены мишени. Инозитол-гексакисфосфат (IP_6) связывается с F-box рецепторами ауксина, снижая чувствительность клеток к этому гормону (Sheard et al., 2010). Инозитол-пентакисфосфат (инозитол-1,2,4,5,6-пентафосфат – IP_5) связывается с F-box рецепторами изолейцинжасмоната, облегчая их взаимодействие с гормоном (Tan et al., 2007; Mosblech et al., 2011).

Среди высокофосфорилированных инозитолов обнаружены формы, содержащие пирофосфатные группы. В настоящее время обсуждается потенциальная роль IP_7 и IP_8 в качестве сигнальных молекул и источников фосфата для биосинтеза АТФ (Boss, Im, 2012).

Судя по обилию разнообразных фосфорилированных инозитолов, возможно, что некоторые из них связаны с регуляцией Ca^{2+} -каналов.

Производные диацилглицерола. Мишени диацилглицерола (DAG) в PI-PLC-зависимом механизме у растений не найдены. Образующийся в результате гидролиза PI-4,5- P_2 диацилглицерол фосфорилируется диацилглицеролкиназой (DGK) до фосфатидной кислоты (PA) (рис. 6). Механизм регенерации фосфатидной кислоты из DAG широко распространен в природе и функционирует, в том числе, у животных. Однако у растений фосфатидная кислота тоже фосфорилируется при активации фосфолипаз С и D (Munnik et al., 1996). Фосфатидаткиназа (ПАК) катализирует образование диацилглицерол-пирофосфата (DGPP). Значение DGPP заключается, прежде всего, в ослаблении сигнала, который передается через PA.

Однако в настоящее время также не исключается возможность существования мишеней, на которые бы влиял DGPP. У высших животных фосфатидаткиназная активность и присутствие DGPP в клетках не обнаружены.

Поскольку не диацилглицерол, а фосфатидная кислота и, возможно, диацилглицеролпирофосфат взаимодействуют с даунстрим сигнальными молекулами, то ферменты диацилглицеролкиназа и фосфатидаткиназа, последовательно катализирующие превращения $DAG \rightarrow PA \rightarrow DGPP$, рассматриваются важными сигнальными ферментами в рамках растительных сигнальных систем. Количество DGPP и PA строго регулируется и зависит от активности диацилглицеролкиназы, фосфатидаткиназы и их антагонистов – специфических фосфатаз, дефосфорилирующих DGPP и PA.

Краткая схема PI-PLC опосредованного сигнального механизма.

1) Активация полифосфоинозитид-специфичной фосфолипазы C и фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназы.

2) Расщепление фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата на инозитол-1,4,5-трифосфата и диацилглицерола.

3) Синтез низкомолекулярных регуляторов (вторичных мессенджеров) из продуктов распада PI-4,5-P₂: высокофосфорилированных форм инозитола, фосфатидной кислоты и диацилглицерол-пирофосфата.

4) Модуляция активности мишеней вторичными мессенджерами.

Фосфолипазы A₂

Фосфолипазы A₂ отщепляют sn-2 ацилэфирные связи фосфолипидов с образованием свободных жирных кислот и 1-ацил-2-лизофосфолипидов (рис. 7). В растениях присутствуют фосфолипазы A₂ двух основных типов (Wang, 2001):

1) секреторные (secretory) низкомолекулярные фосфолипазы A₂ (sPLA₂);

2) внутриклеточные (intracellular) Ca²⁺-независимые фосфолипазы A₂ (iPLA₂).

У животных обнаружены также цитозольные (cytosolic) Ca²⁺-зависимые фосфолипазы A₂ (cPLA₂) (Balsinde et al., 1999).

Секреторные фосфолипазы A₂ обладают низкой молекулярной массой (14 kD) и проявляют оптимальную активность при миллимолярных концентрациях Ca²⁺ (Stahl et al., 1998). Из тканей нескольких видов растений (рис, гвоздика, вяз) были выделены и клонированы

кДНК соответствующие секреторным фосфолипазам A₂. Анализ последовательности этих ДНК показал наличие нескольких дисульфидных связей и сигнального пептида, определяющего секреторные свойства молекулы фермента.

Внутриклеточные фосфолипазы A₂ (iPLA₂) представляют группу, включающую мембраносвязанные и цитозольные ферменты с молекулярной массой 40-48 kD. Все известные растительные iPLA₂ предпочтительно отщепляют линолевую и линоленовую группы, находящиеся в sn-2 положении фосфатидилхолина. Эти ферменты стимулируются кальмодулином, в отсутствие которого не реагируют на изменение концентрации Ca²⁺ (Jung, Kim, 2000).

Катализ. Внутриклеточные и секреторные фосфолипазы A₂ имеют разный механизм действия (Balsinde et al., 1999).

Внутриклеточные фосфолипазы A₂ гидролизуют ацилэфирную связь через образование ацил-ферментного посредника. Ацил присоединяется к остатку серина, который находится в консенсусной последовательности GX SXG. Ионы Ca²⁺ не принимают непосредственного участия в катализе, однако Ca²⁺ необходим для кальцинирования кальмодулина – активатора фермента.

Секреторные фосфолипазы A₂ непосредственно используют ионы Ca²⁺ в активации. В молекуле фермента есть консервативные Ca²⁺-связывающие центры (EF-руки). Связывание кальция стабилизирует переходное состояние молекулы, необходимое для проявления активности. Секреторные фосфолипазы A₂ не имеют GX SXG последовательности и не образуют ацил-ферментного посредника. В механизм катализа sPLA₂ вовлекается остаток гистидина и аспартата, которые поляризуют молекулу воды, а затем поляризованная H₂O атакует карбонильную группу.

Октадеканойдный путь

Растительные PLA₂ регулируют, главным образом, октадеканойдный путь, в котором из линоленовой кислоты образуются жасмонаты и другие оксипиены (рис. 8) (Feussner, Wasternack, 2002). В отличие от других эффекторов, главная сигнальная функция PLA₂ заключается в катализе синтеза не собственно вторичных мессенджеров, а предшественников для синтеза других регуляторов. Иными словами, PLA₂ поставляют субстрат для октадеканойдного пути.

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СИГНАЛИНГ У РАСТЕНИЙ

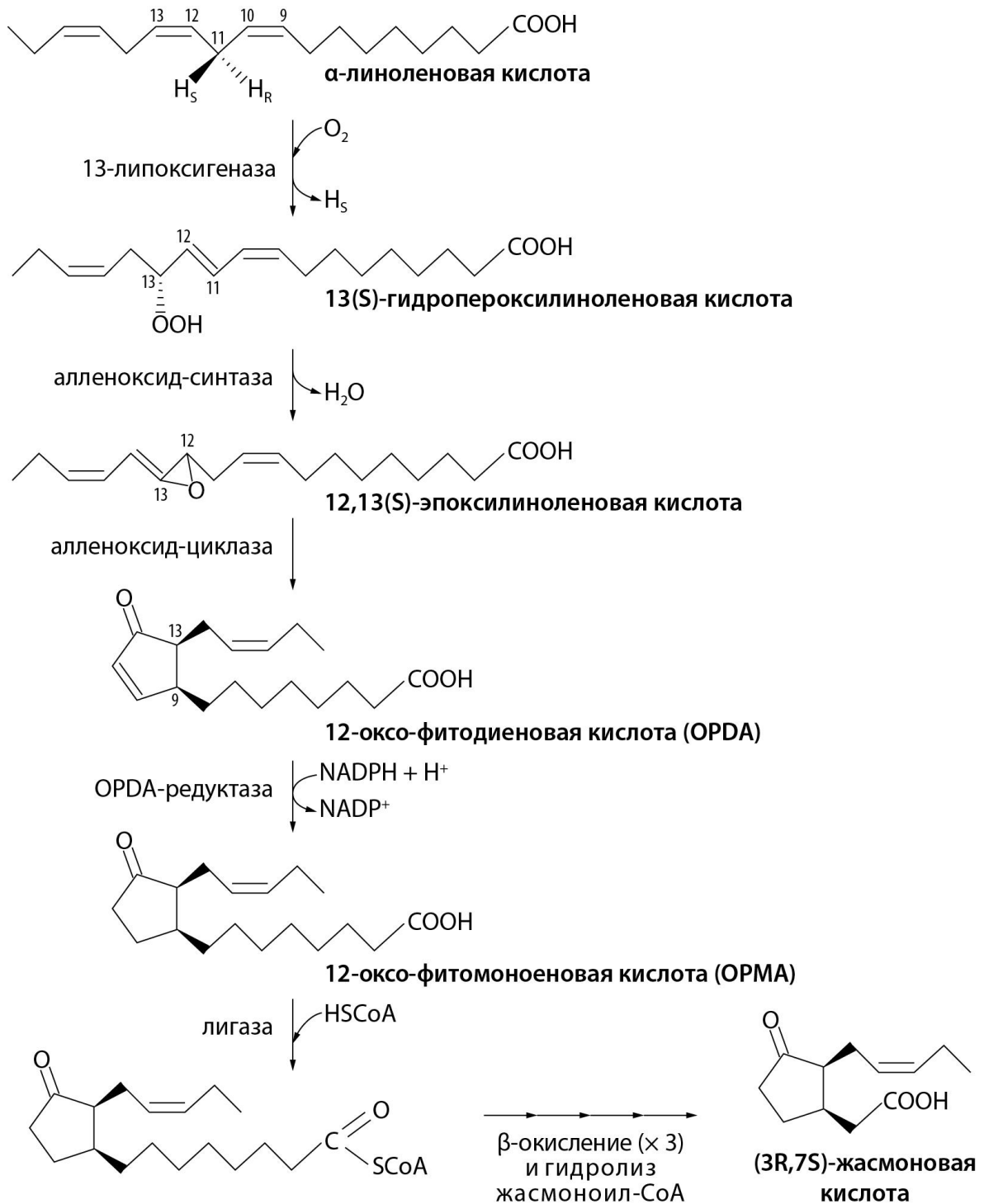


Рис. 8. Синтез жасмоновой кислоты – октадеканойдный путь.

Механизм октадеканойдного пути. Синтез жасмоновой кислоты стимулируется различными внешними сигналами через активацию фосфолипазы A_2 и липоксигеназы (Creelman, Mullet, 1997). Фосфолипаза A_2 отщепляет жирнокислотный остаток в положении *sn*-2 от молекулы мембранного фосфолипида. В этом положении, как правило, локализуются жирные кислоты с высокой степенью ненасыщенности и чаще всего линоленовая. Липокси-

геназа вводит в молекулы свободных высоко-ненасыщенных жирных кислот пероксидную группу, специфически узнавая пентадиеновую систему (пять атомов и две двойных связи). В структуре линоленовой кислоты можно выделить две пентадиеновых системы, включающих атомы углерода с номерами 9-13 и 12-16. Пентадиеновая система, распознаваемая 13-липоксигеназой сформирована атомами от С-9 до С-13. Липоксигеназа отщепляет 11-про-S-

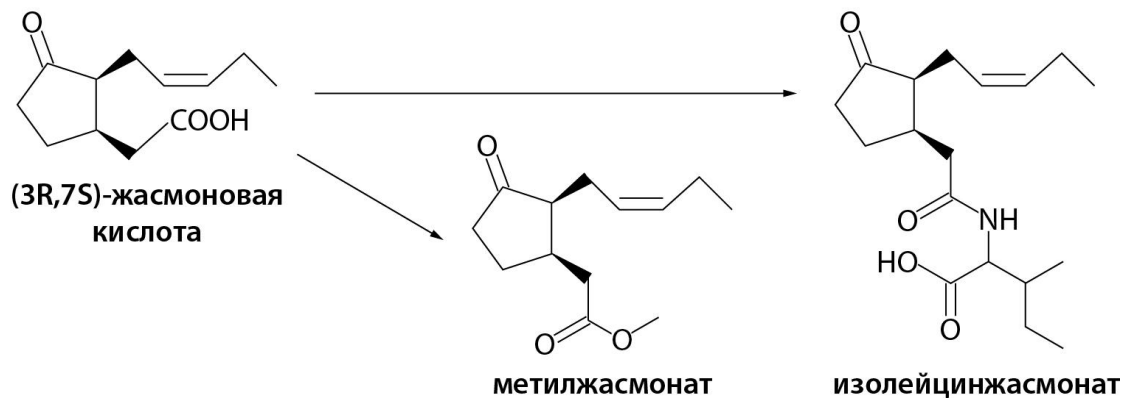


Рис. 9. Производные жасмоновой кислоты.

атом водорода (H_s) от C-11 и присоединяет молекулу кислорода к C-13 в виде пероксидной группы (рис. 8). В результате образуется двойная 11-*транс*-связь (между атомами C-11 и C-12). Далее фермент аллен-оксид синтаза (гидропероксид-дегидраза) отщепляет от 13-гидроксипероксилиноленовой кислоты гидроксил с образованием эпоксидной группы у атомов C-12-C-13. 12-13-эпоксилиноленовая кислота за счет каталитической активности фермента аллен-оксид циклазы формирует пентациклическую структуру, образуя связь между C-9 и C-13. В результате циклизации эпоксидный кислород сохраняет связь только с C-12 и становится кислородом кетогруппы в молекуле 12-оксофитодиеновой кислоты. Двойная связь в цикле (C-10-C-11) насыщается NADPH-зависимой редуктазой. При этом образуется 12-оксофитомоноеновая кислота, из которой в результате трех этапов β -окисления (молекула теряет при этом шесть атомов углерода) синтезируется жасмоновая кислота (Browse, 2009).

Октадеканойдный путь может инициироваться не только в результате фосфолипазной реакции, но и путем липоксигенирования липид-связанных жирнокислотных остатков линоленовой кислоты. Фосфолипазы A_2 при выборе субстрата отдают предпочтение перекисленым мембранным липидам. Поэтому перекисленный остаток линоленовой кислоты избирательно отщепляется от липида и подвергается дальнейшим изменениям с образованием жасмоновой кислоты.

Жасмоновая кислота в растительных тканях подвергается ковалентной модификации путем конъюгирования с различными соединениями (спиртами, аминокислотами). Изолейцинжасмонат, продукт конъюгации жасмоновой кислоты с изолейцином, считается физиологически активной формой (рис. 9). Другой известный конъюгат – метиловый эфир жасмо-

новой кислоты является летучим соединением. Метилжасмонат, как и жасмоновая кислота выполняет транспортные функции, но распространяется не по флоэме, а по воздуху. Причем, коммуникация с помощью метилжасмоната осуществляется не только между пространственно отдаленными органами одного растения, но и между отдельными растениями (Васюкова, Озерецковская, 2009). Проникая в ткани, метилжасмонат расщепляется эстеразами до свободной жасмоновой кислоты, которая в дальнейшем преобразуется в активную форму.

Функции фосфолипазы A_2

Продукты октадеканойдного пути участвуют в регуляции ответных реакций на механические повреждения и воздействия патогенов (Turner et al., 2002; Browse, 2009). В результате действия этих стрессоров в растениях наблюдается возрастание активности PLA_2 и, как результат, системное накопление лизофосфолипидов и высвобождение полиненасыщенных жирных кислот (преимущественно линоленовой), которые подвергаются действию липоксигеназ и вовлекаются в октадеканойдный путь. В стрессированных клетках PLA_2 могут опосредовать механизмы генерации активных форм кислорода и синтеза алкалоидов. Активацию PLA_2 можно продемонстрировать в отсутствие стресса, но под действием системина или олигосахаридов (Narvaez-Vasquez et al., 1999; Ryan, 2000).

Помимо стрессовых реакций фосфолипазы A_2 участвуют в других клеточных процессах: метаболизме липидов и ауксин-стимулируемом росте. PLA_2 -подобная активность преимущественно направлена на отщепление не только высоконенасыщенных жирных кислот, но и второстепенных или редких. Такие жирные кислоты перераспределяются из мембранных фосфолипидов в запасные триацилглицеролы. Таким образом, PLA_2 участвуют в

накоплении запасных липидов (Stahl et al., 1995). На семенах огурца показано, что PLA₂ локализуется в сферосомах семядолей и участвуют в катаболизме и утилизации запасных липидов в процессах прорастания семян и роста проростков. В ауксин-стимулируемом росте высвобожденные жирные кислоты могут служить в качестве вторичных мессенджеров, посредством которых частично регулируется рост клеток растяжением.

Различные сигнальные пути (стресс- или ауксин-индуцируемые), по-видимому, вовлекают разные типы PLA₂. Так ингибитор внутриклеточных фосфолипаз A₂ HELSS тормозит ауксин-индуцируемое удлинение гипокотилей цукини и колептилей кукурузы, а ингибитор системин-индуцируемых PLA₂ AACOCF3 оказался не эффективным в отношении ростовых реакций (Paul et al., 1998).

Взаимодействие сигнальных фосфолипаз

Изучение накопления продуктов липидного обмена в стрессовых условиях показало, что повышение количества фосфатидной кислоты предшествует возрастанию уровня диацилглицерола, свободных жирных кислот, пероксидированных жирных кислот и лизофосфолипидов (Liscovitch et al., 2000), тогда как репрессия PLD α приводила к снижению стресс-индуцируемого накопления линоленовой кислоты и жасмонатов (Wang C. et al., 2000). Следовательно, фосфолипазы D, продуцирующие фосфатидную кислоту, могут стимулировать активацию других ферментов катаболизма липидов.

Ферменты липидного сигнального каскада часто формируют сложные сети, которые опосредуют специфический клеточный ответ. Примером такого взаимодействия является участие фосфолипаз C, D и A₂ в регуляции устьичной транспирации. PLD и фосфатидилинозитид-зависимые PLC (PI-PLC) опосредуют закрытие устьиц, тогда как PLA₂ стимулируют их открывание (Jacob et al., 1999). Под влиянием PI-PLC запускается каскад реакций (синтез инозитол-1,4,5-трифосфат и его производных), который приводит к повышению уровня ионов Ca²⁺ в цитоплазме. Ионы Ca²⁺ способствуют связыванию PLD с мембранами, в результате чего этот фермент активируется. Продукт катализа PLD – фосфатидная кислота активирован фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназу (PI4P5K), которая принимает участие в продукции фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата – субстрата для PI-PLC (рис. 6). Таким образом,

PI-PLC, PLD и PI4P5K создают позитивную регуляторную петлю (Wang, 2001). С другой стороны, фосфолипазы A₂ могут выступать антагонистами PLD и PI-PLC, так как помимо высвобожденной линоленовой кислоты, из которой генерируются жасмонаты и другие оксипирины, продуктами каталитической активности PLA₂ являются лизофосфолипиды, которые ингибируют PLD (Ryu et al., 1997).

ЛИТЕРАТУРА

Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. Жасмонат-зависимая защитная сигнализация в тканях растений // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 5. – С. 643-653.

Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. – Киев: Основа, 2010. – 352 с.

Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Курилова Л.С. Механизмы внутриклеточной сигнализации – СПб.: Изд-во С-Пб. ун-та, 2003. – 208 с.

Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.

Balsinde J., Balboa M.A., Insel P.A., Dennis E.A. Regulation and inhibition of phospholipase A₂ // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1999. – V. 39. – P. 175-189.

Boss W.F., Im Yang Ju. Phosphoinositide signaling // Annu. Rev. Plant Biol. – 2012. – V. 63. – P. 409-429.

Boss W.F., Lynch D.V., Wang X. Lipid-mediated signaling // Intracellular Signaling in Plants / Ed. Z Yang. – Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2008. – P. 232-243.

Braun M., Baluska F., von Witsch M., Menzel D. Redistribution of actin, profilin and phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate in growing and maturing root hairs // Planta. – 1999. – V. 209. – P. 435-443.

Browse J. Jasmonate passes muster: a receptor and targets for the defense hormone // Annu. Rev. Plant Biol. – 2009. – V. 60. – P. 183-205.

Creelman R.A., Mullet J.E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. – Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1997. – V. 48. – P. 355-381.

Dove S.K., Lloyd C.W., Drobak B.K. Identification of a phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase in plant cells: association with the cytoskeleton // Biochem. J. – 1994. – V. 303. – P. 347-350.

Feussner I., Wasternack C. Lipooxygenase pathway // Annu. Rev. Plant Biol. – 2002. – V. 53. – С. 275-297.

Frank W., Munnik T., Kerkmann K., Salamini F., Bartels D. Water deficit triggers phospholipase D activity in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* // Plant Cell. – 2000. – V. 12. – P. 111-124.

- Gomes E., Venema K., Simon-Plas F., Milat M.L., Palmgren M.G., Blein J.P. Activation of the plant plasma membrane HC-ATPase. Is there a direct interaction between lysophosphatidylcholine and the C-terminal part of the enzyme? // *FEBS Lett.* – 1996. – V. 398. – P. 48-52.
- Hernández-Sotomayor S.M.T., Santos-Briones C.D.L., Muñoz-Sánchez J.A., Loyola-Vargas V.M. Kinetic analysis of phospholipase C from *Catharanthus roseus* transformed roots using different assays // *Plant Physiol.* – 1999. – V. 120. – P. 1075-1082.
- Hunt L., Otterhag L., Lee J.C., Lasheen T., Hunt J., Seki M., Shinozaki K., Sommarin M., Gilmour D.J., Pical C., Gray J.E. Gene-specific expression and calcium activation of *Arabidopsis thaliana* phospholipase C isoforms // *New Phytol.* – 2004. – V. 162. – P. 643-654.
- Im Y.J., Perera I.Y., Brglez I., Davis A.J., Stevenson-Paulik J., Phillippy B.Q., Johannes E. Allen N.S. Boss W.F. Increasing plasma membrane phosphatidylinositol(4,5)bisphosphate biosynthesis increases phosphoinositide metabolism in *Nicotiana tabacum* // *Plant Cell.* – 2007. – V. 19. – P. 1603-1616.
- Jacob T., Ritchie S., Assmann S.M., Gilroy S. Abscisic acid signal transduction in guard cells is mediated by phospholipase D activity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – V. 96. – P. 12192-12197.
- Jung K.M., Kim D.K. Purification and characterization of a membrane-associated 48-kilodalton phospholipase A₂ in leaves of broad bean // *Plant Physiol.* – 2000. – V. 123. – P. 1057-1068.
- Kim D.H., Eu Y.J., Yoo C.M., Kim Y.W., Pih K.T., Jin J.B., Kim S.J., Stenmark H., Hwang I. Trafficking of phosphatidylinositol 3-phosphate from the trans-Golgi network to the lumen of the central vacuole in plant cells // *Plant Cell.* – 2001. – V. 13. – P. 287-301.
- Kopka J., Pical C., Gray J.E., Muller-Rober B. Molecular and enzymatic characterization of three phosphoinositide-specific phospholipase C isoforms from potato // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 116. – P. 239-250.
- Kost B., Lemichez E., Spielhofer P., Hong Y., Tolia K., Carpenter C., Chua N.H. Rac homologues and compartmentalized phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate act in a common pathway to regulate polar pollen tube growth // *J. Cell Biol.* – 1999. – V. 145. – P. 317-330.
- Liscovitch M., Czarny M., Fiucci G., Tang X. Phospholipase D: molecular and cell biology of a novel gene family // *Biochem. J.* – 2000. – V. 345. – P. 401-415.
- Loewus F.A., Murthy P.P.N. myo-Inositol metabolism in plants // *Plant Sci.* – 2000. – V. 150. – P. 1-19.
- Lofke C., Ischebeck T., König S., Freitag S., Heilmann I. Alternative metabolic fates of phosphatidylinositol produced by phosphatidylinositol synthase isoforms in *Arabidopsis thaliana* // *Biochem. J.* – 2008. – V. 413. – P. 115-124.
- Meijer H.J.G., Divecha N., van den End H., Musgrave A., Munnik T. Hyperosmotic stress induces rapid synthesis of phosphatidyl-D-inositol 3,5-bisphosphate in plant cells // *Planta.* – 1999. – V. 208. – P. 294-298.
- Meijer H.J.G., Munnik T. Phospholipid-based signaling in plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2003. – V. 54. – P. 265-306.
- Mosblech A., Thurow C., Gatz C., Feussner I., Heilmann I. Jasmonic acid perception by CO11 involves inositol polyphosphates in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J.* – 2011. – V. 65. – P. 949-957.
- Mueller-Roeber B., Pical C. Inositol phospholipid metabolism in *Arabidopsis*. Characterized and putative isoforms of inositol phospholipid kinase and phosphoinositide-specific phospholipase C // *Plant Physiol.* – 2002. – V. 130. – P. 22-46.
- Munnik T. Phosphatidic acid: an emerging plant lipid second messenger // *Trends Plant Sci.* – 2001. – V. 6. – P. 227-233.
- Munnik T., Irvine R.F., Musgrave A.P. Phospholipid signalling in plants // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – V. 1389. – P. 222-272.
- Munnik T., de Vrije T., Irvine R. F., Musgrave A. Identification of diacylglycerol pyrophosphate as a novel metabolic product of phosphatidic acid during G-protein activation in plants // *J. Biol. Chem.* – 1996. – V. 271. – P. 15708-15715.
- Narvaez-Vasquez J., Florin-Christensen J., Ryan C.A. Positional specificity of a phospholipase A activity induced by wounding, systemin, and oligosaccharide elicitors in tomato leaves // *Plant Cell.* – 1999. – V. 11. – P. 2249-2260.
- Pappan K., Austin-Brown S., Chapman K. D., Wang X. Substrate selectivities and lipid modulation of phospholipase D α , - β , and - γ from plants // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1998. – V. 353. – P. 131-140.
- Pappan K., Zheng S., Wang X. Identification and characterization of a novel phospholipase D that requires polyphosphoinositide and submicromolar calcium for activity in *Arabidopsis* // *J. Biol. Chem.* – 1997. – V. 272. – P. 7048-7054.
- Park K.Y., Jung J.Y., Park J., Hwang J.U., Kim Y.W., Hwang I., Lee Y. A Role for phosphatidylinositol 3-phosphate in abscisic acid-induced reactive oxygen species generation in guard cells // *Plant Physiol.* – 2003. – V. 132. – P. 92-98.
- Paul R. U., Holk A., Scherer G.F. Fatty acids and lysophospholipids as potential second messengers in auxin action. Rapid activation of a phospholipase A₂ activity by auxin in suspension-cultured parsley and soybean cells // *Plant J.* – 1998. – V. 16. – P. 601-611.
- Preuss M. L., Schmitz A.J., Thole J.M., Bonner H.K.S., Otegui M.S., Nielsen E. A role for the RabA4b effec-

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СИГНАЛИНГ У РАСТЕНИЙ

- tor protein, PI-4K β 1, in polarized expansion of root hair cells in *Arabidopsis* // *J. Cell Biol.* – 2006. – V. 172. – P. 991-998.
- Ryan C.A. The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – V. 1477. – P. 112-121.
- Ryu S.B., Karlsson B.H., Ozgen M., Palta J.P. Inhibition of phospholipase D by lysophosphatidylethanolamine, a lipid-derived senescence retardant // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – V. 94. – P. 12717-12721.
- Santagata S., Boggon T.J., Baird C.L., Gomez C.A., Zhao J., Shan W.S., Myszkowski D.G., Shapiro L. G-protein signaling through Tubby proteins // *Science.* – 2001. – V. 292. – P. 2041-2050.
- Sheard L.B., Tan X., Mao H., Withers J., Ben-Nissan G., Hinds T.R., Kobayashi Y., Hsu F.F., Sharon M., Browse J., He S.Y., Rizo J., Howe G.A., Zheng N. Jasmonate perception by inositolphosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor // *Nature.* – 2010. – V. 468. – P. 400-405.
- Stahl U., Banas A., Stymne S. Plant microsomal acyl hydrolases have selectivities for uncommon fatty acids // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 107. – P. 953-962.
- Stahl U., Ek B., Stymne S. Purification and characterization of a low-molecularweight phospholipase A₂ from developing seeds of elm // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 117. – P. 197-205.
- Stuckey J.A., Dixon J.E. Crystal structure of a phospholipase D family member // *Nat. Struct. Biol.* – 1999. – V. 6. – P. 278-284.
- Tan X., Calderon-Villalobos L.I., Sharon M., Zheng C., Robinson C.V., Estelle M., Zheng N. Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase // *Nature.* – 2007. – V. 446. – P. 640-645.
- Turner J.G., Ellis C., Devoto A. The jasmonate signal pathway // *Plant Cell.* – 2002. – S153-S164.
- Wang C., Zien C., Afithile M., Welti R., Hildebrand D.F., Wang X. Involvement of phospholipase D in wound-induced accumulation of jasmonic acid in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* – 2000. – V. 12. – P. 2237-2246.
- Wang X. Multiple forms of phospholipase D in plants: the gene family, catalytic and regulatory properties, and cellular functions // *Prog. Lipid Res.* – 2000. – V. 39. – P. 109-149.
- Wang X. Plant phospholipases // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2001. – V. 52. – P. 211-231.
- Wang X. The role of phospholipase D in signaling cascades // *Plant Physiol.* – 1999. – V. 120. – P. 645-652.
- Wang X., Wang C., Sang Y., Zheng L., Qin C. Determining functions of multiple phospholipase Ds in stress response of *Arabidopsis* // *Biochem. Soc. Trans.* – 2000. – V. 28. – P. 813-816.
- Wissing J.B., Grabo P., Kornak B. Purification and characterization of multiple forms of phosphatidylinositol-specific phospholipases D from suspension cultured *Catharanthus roseus* cells // *Plant Sci.* – 1996. – V. 117. – P. 17-31.
- Zheng L., Krishnamoorthi R., Zolkiewski M., Wang X. Distinct Ca²⁺ binding properties of novel C2 domains of plant phospholipase D α and β // *J. Biol. Chem.* – 2000. – V. 275. – P. 19700-19706.

Поступила в редакцию
28.08.2014 г.

PHOSPHOLIPID SIGNALING IN PLANTS

V. Yu. Dzhamayev

V.N. Karazin Kharkov National University
(Kharkiv, Ukraine)
e-mail: vs25140309@gmail.com

The information about the main phospholipase's groups, their operation and role in the intracellular signaling in plants is presented in lecture. It's explained the modern concepts of the signal transduction mechanisms involving phospholipases D, C and A₂. The hydrolysis products of phospholipids possessing a signal features, their conversion and putative target are described.

Key words: *phospholipase, intracellular signaling, phosphoinositides, inositolphosphates, phosphatidic acid, jasmonates, octadecanoid path*

ДЖАМЕЕВ

ФОСФОЛІПІДНИЙ СИГНАЛІНГ У РОСЛИН

В. Ю. Джамеєв

*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
(Харків, Україна)
e-mail: vs25140309@gmail.com*

Представлений матеріал про основні групи фосфоліпаз, їх функціонування і роль у внутрішньоклітинному сигналінгу у рослин. Викладені сучасні уявлення про механізми передачі сигналу за участю фосфоліпаз D, C і A₂. Описані продукти гідролізу фосфоліпідів, що мають сигнальне значення, їх метаболізація і ймовірні мішені.

Ключові слова: *фосфоліпази, внутрішньоклітинний сигналінг, фосфоінозитиди, інозитолфосфати, фосфатидна кислота, жасмонати, октадеканойдний шлях*