

Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Гены биосинтеза ауксинов и ауксин-регулируемые гены, контролирующие деление и растяжение клеток растений

В. А. Цыганкова, Л. А. Галкина, Л. И. Мусатенко, К. М. Сытник

Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины
Ул. Мурманская, 1, Киев, 02094, Украина

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины
Ул. Терещенковская, 2, Киев, 01004, Украина

Рассмотрен спектр генов, детерминирующих различные пути биосинтеза индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), идентифицированных у Arabidopsis: TRP1 гена антрилатфосфорибозилтрансферазы 1, TRP3 гена триптофансинтетазы и семейства NIT генов нитрилиз, катализирующих триптофан-независимый путь биосинтеза ИУК из предшественника индол-3-ацетонитрила; CYP79B и CYP83B1 генов (членов семейства генов цитохромов P450), контролирующих биосинтез ИУК из триптофана; генов ферментов, катализирующих биосинтез ИУК из индолил-3-масляной кислоты: PXA1 и PEX14 генов пероксисомных мембранных белков — членов семейства ABC-АТФаз, PEX5 и PEX7 генов цитоплазматических белков-рецепторов, генов пероксисомных матриксных белков-ферментов (асх3 гена ацил-СоА оксидазы, ait1 гена многофункционального белка и red1 гена тиолазы); генов ферментов, катализирующих образование конъюгатов ИУК и их гидролиз: генов IAGLc синтетазы, IAIpos трансферазы, серинкарбокисептидаз-подобной IAIpos ацилтрансферазы и IAR3 гена ИУК-Ала гидролазы. Представлены номенклатура и классификация ауксин-регулируемых генов, ответственных за клеточное деление: генов циклинов и циклинзависимых протеинкиназ, а также генов многочисленного семейства митоген-активируемых протеинкиназ. Подробно рассмотрены ауксин-регулируемые гены ферментов, участвующих в биосинтезе и гидролизе полисахаридных компонентов стенок клеток растений в период их роста и растяжения: EI ген эндо-1,3:1,4-β-D-глюканазы и EXOII ген экзо-β-D-глюканазы, многочисленные семейства XET генов ксилоглюкановых эндотрансглюкозилаз, ZeEXP генов экспансинов, AtFUT генов ксилоглюкан-специфических β-1,6- и β-1,2-фукозилтрансфераз и гликозилтрансфераз, CSL генов ксилоглюкановых глюкансинтетаз и β-1,4-маннансинтетаз, MUR генов ксилоглюкановых галактозилтрансфераз, а также AtXT1 ген и гомологичные AtGT2-7 гены ксилоглюкановых ксилозилтрансфераз у Arabidopsis; XS1 ген ксилансинтетазы у риса и GS1 ген глюкансинтетазы у кукурузы. Обсуждается роль структурного белка клеточной стенки — экстенсина (кодированного ауксин-регулируемым HRGP геном) в защите растений от патогенов и неблагоприятных факторов внешней среды.

Ключевые слова: гены биосинтеза индолил-3-уксусной кислоты (ИУК); ауксин-регулируемые гены, ответственные за деление и растяжение клеток растений.

Введение. Сведения о наличии гормональной регуляторной системы у растений появились более ста лет назад. В первых опубликованных работах ис-

следователями сделаны предположения о существовании эндогенных механизмов контроля роста и развития растений, основанные лишь на эмпирических, фрагментарных данных о функционально коррелятивной взаимосвязи между разными орга-

нами растения [1]. Фактами, подтверждающими эту взаимосвязь, являются описанные в этих ранних публикациях многочисленные физиологические процессы, такие как усиление роста боковых почек при отделении главной верхушечной [2], ускорение прорастания семян при отделении их от плодов [3], прекращение тропизмов колеоптилей в случае декапитирования их апикальных зон [4], прекращение распада крахмала при удалении зародышей [5], нарушение роста почек при частичной дефолиации листьев [6], замедление процесса старения листьев и стеблей при удалении репродуктивных органов у растений [7]. В дальнейшем на основании этих наблюдений были высказаны предположения о том, что взаимодействия между отдельными органами растений могут опосредоваться химическими соединениями, названными впоследствии фитогормонами.

Существенный прогресс в данной области достигнут с развитием органической химии. Первый ауксин — индолил-3-уксусная кислота (ИУК), названный гормоном роста, выделен и идентифицирован выдающимся украинским биологом, основателем учения о фитогормонах Холодным в 1928 г. [8, 9]. Почти одновременно и независимо аналогичные экспериментальные исследования были проведены и теоретически обоснованы голландским физиологом Вентом. В результате сформулирована общая гормональная теория тропизмов, известная в научной и учебной литературе как теория Холодного-Вента. Классическая концепция фитогормона как химического мессенджера, который синтезируется в одной части растения, перемещается в другую и влияет на различные физиологические процессы, впервые изложена в 1937 году Вентом и Тиманном [10]; позже, в 1960 году, Тиманн терминологически дополнил концепцию фитогормонов как органических веществ, действующих в небольших количествах [11].

Следует отметить, что с момента открытия Дарвиным явления тропизма и на протяжении последующих десятилетий считалось, что ИУК является главным регуляторным гормоном на всех этапах онтогенеза растений, а экспериментальные данные, свидетельствующие о существовании других физиологически активных соединений, регулирующих процессы пролиферации и дифференциации клеток, подвергались сомнению вплоть до 50-х годов прошлого столетия.

В последующие годы были идентифицированы

новые классы фитогормонов: гиббереллины, цитокинины, этилен и абсцизовая кислота, которые первоначально рассматривались физиологами как агенты, изменяющие действие ауксина [12]. Однако позже было доказано, что эти соединения сами по себе являются фитогормонами, а результаты многочисленных исследований, свидетельствующие о перекрестном регуляторном действии пяти фитогормонов, позволили ученым сформулировать концепцию о существовании у растений эндогенной интегральной регуляторной фитогормональной системы.

Открытия последних лет в области фитогормонологии, достигнутые благодаря использованию новых методов химического и молекулярно-биологического анализов, дополнили список пяти классических фитогормонов новыми, нетрадиционными регуляторами роста растений, получившими впоследствии статус фитогормонов: олигосахаридами, жасмонатами, салицилатами, полиаминами [13—15], тургоринами, стиrolами [16]; гормоноподобными веществами двойного ауксин-цитокининового действия (к которым относятся брассиностероиды [15] и обнаруженный в цветковых растениях фузикоцин [17]); раневыми гормонами (некрогормон, травматин) — соединениями, возникающими на поврежденных и раневых поверхностях и способствующими их заживлению (предполагается, что функцию раневых гормонов, кроме известной, но мало распространенной травминовой кислоты, выполняют ауксины и цитокинины) [18]; гормонами цветения — верналином и флоригеном.

Предположение о существовании флоригена впервые высказано в 1937 г. выдающимся русским биологом Чайлахяном [18]. Дальнейшие работы Чайлахяна позволили сделать вывод о том, что флориген представляет собой комплекс фитогормонов, в состав которого входят: гиббереллины и антезины (группа факторов цветения), образующиеся в результате возрастных изменений или под влиянием факторов внешней среды (фотопериодическая индукция и др.) и инициирующие формирование цветочных органов (как предполагают, гиббереллины необходимы длиннодневным растениям, которым для зацветания требуется достаточно длинный световой период суток, антезины же стимулируют цветение короткодневных растений и местом их образования являются листья).

Гормон цветения верналин выявлен Мельхерсом в 1939 г. Установлено, что местом его биосин-

теза являются зародыши прорастающих семян, делящиеся клетки верхушечных меристем взрослых (двулетних) растений, подверженных на протяжении некоторого времени воздействию низких температур, например, зимних холодов.

Выявлены и другие негормональные соединения природного происхождения, оказывающие как стимулирующее действие (например, обладающие ауксиновой активностью фенолкарбоновые кислоты — феруловая, ванилиновая, кофейная, производные мочевины, которым присущи свойства цитокининов, калориген, D-пинитол, гликозиды гентизиновой кислоты, дигидрокониферол, а также некоторые витамины — аскорбиновая кислота, тиамин и никотиновая кислота), так и проявляющие ингибирующую активность фенольные соединения (в частности, нарингенин, кумарин, скополетин, хлорогеновая и коричная кислоты). Идентифицирован также широкий ряд соединений, оказывающих регулирующее действие на стадии покоя у растений [1, 18].

Значительные успехи достигнуты физиологами в изучении путей биосинтеза большинства классов фитогормонов, а также механизма их действия на молекулярном уровне. С помощью эпистатического и мозаичного методов генетического анализа, а также молекулярно-биологическими методами [19, 20] определены гены биосинтеза всех классов фитогормонов (т. е. гены предшественников фитогормонов, а также регуляторных белков-ферментов, участвующих в каскадном механизме регуляции всех этапов синтеза фитогормонов); изучены пути передачи сигналов от фитогормонов по цепи: рецепторы — вторичные мессенджеры — специфические гены. Исследованы механизмы сигнальных взаимодействий между разными классами фитогормонов и раскрыта их физиологическая роль в регуляции онтогенетических стадий развития растений (как эмбриональной, так и постэмбриональной). Подробно изучена роль фитогормонов в регуляции ключевых процессов дифференцировки клеток: в процессах деления и растяжения клеток (например, идентифицированы фитогормон-регулируемые гены и их продукты — ферменты, участвующие в гидролизе и биосинтезе компонентов клеточной стенки при росте клеток растяжением, а также в регуляции митотического цикла клеток растений). Раскрыто участие фитогормонов в фотоморфогенетических процессах, в повышении устойчивости растений к неблагоприятным факторам

окружающей среды и к патогенам. Перспективными направлениями для практического использования достижений в области фитогормонологии являются:

1) создание новых мутантных линий растений с нарушенным или сниженным биосинтезом того или иного фитогормона и, наоборот, получение трансгенных растений, гиперэкспрессирующих тот или иной фитогормон для придания растению сельскохозяйственно полезных признаков (этими способами можно: корректировать все этапы онтогенеза, регулируя сроки прорастания семян, вегетации, цветения, опадения плодов и повышать урожайность культур; создавать сверхустойчивые к патогенам и неблагоприятным факторам окружающей среды линии растений за счет стимуляции фитогормонами синтеза защитных соединений);

2) получение новых физиологически активных соединений, обладающих регулирующей рост активностью, сходной с таковой фитогормонов, способных индуцировать суперсинтез лекарственных соединений в культурах клеток и тканей растений *in vitro*;

3) создание новых недорогостоящих синтетических регуляторов роста растений с механизмом физиологического действия, аналогичным таковому природных фитогормонов.

В предлагаемом обзоре обобщены и систематизированы многочисленные литературные данные о физиологической роли ауксинов в регуляции ростового процесса, генах биосинтеза ауксинов, а также ауксин-регулируемых генах, контролирующих клеточный цикл и процесс растяжения клеток.

Роль ауксинов в развитии растений. Ауксины — это фитогормоны, образующиеся в верхушках coleoptилей, верхушках побегов, молодых листьях, пыльце, плодах, в активном камбии и в кончиках корней. В различных тканях побегов ауксины чаще движутся базипетально (т. е. от морфологически апикальной к базальной зоне), чем акропетально (от базальной к апикальной зоне) [21—24]. Самым распространенным в растительном мире ауксином является ИУК; обнаружены также другие вещества индольной природы, являющиеся предшественниками ИУК: индолил-ацетальдегид, индолилэтанол, индолилпиридиноградная, индолилмолочная, индолил-3-масляная (ИМК), а также фенилацетиловая кислоты. Выявлено, что у представителей семейства крестоцветных содержится индол-3-ацетонитрил (ИАН), а

природным ауксином семейства *Fabaceae* является 4-хлороиндолил-3-уксусная кислота [13, 25]. Часть содержащейся в растениях ИУК присутствует в виде конъюгатов, особенно в сухих семенах (например, в эндосперме многих злаковых и бобовых культур в большом количестве содержатся сложные эфиры ИУК с глюкозой, аминокислотами, пептидами, гликопротеинами, инозитолом и глюканом, способные подвергаться гидролизу, ферментализу или аутолизу) [26]. Конъюгаты ауксинов обычно являются резервом запасных (гликозиды) или обладающих детоксикационными свойствами (аминокислоты или белковые комплексы) форм ауксинов. В растениях содержатся вещества неиндольной природы, такие как фенилуксусная кислота, которые также обладают активностью, свойственной ауксину [25].

Физиологические эффекты ауксинов [13, 24]:

— стимулируют растяжение клеток в колеоптилях и побегах (для стимуляции роста клеток необходимы концентрации ауксинов, обычные для тканей — 10^{-8} – 10^{-6} моль/л). На молекулярном уровне стимуляция растяжения клеток связана с усиленным перемещением белков-ферментов из цитоплазмы в клеточную стенку, вызывающих ее расщепление и растяжение под действием тургора;

— активируют деление клеток камбия (существует прямая взаимосвязь между распусканием почек и деятельностью камбия у деревьев: удаление почек приводит к отсутствию вторичного роста в ширину). У двудольных травянистых растений вторичный рост в ширину индуцируется ауксином, поступающим в стебель из молодых листьев и верхушечной почки;

— апикальное доминирование: транспортируемые вниз из верхушечной почки ауксины тормозят рост боковых почек; ауксины, синтезирующиеся в апексе корня, стимулируют образование боковых корней;

— ускоряют завязывание плодов (наиболее активными продуцентами ауксинов в развивающемся плоде являются семязпочки);

— препятствуют процессу отделения листьев: поступающие из черешка ауксины ингибируют активность полисахаридных гидролаз (эндополигалактуроназы и целлюлазы — β -1,4-глюканазы), синтезирующихся в отдельительной ткани основания листового черешка при высоких концентрациях этилена; противоположный эффект индукции этого процесса отмечен при поступлении ауксинов

из верхушечного побега. Реакция отдельительной ткани определяется градиентом концентрации ауксина между тканями черешка и верхушечного побега.

Гены биосинтеза ауксинов. Известно, что специфические опухолевые образования «корончатые галлы», а также «бородатые корни» в растительных тканях, зараженных *Agrobacterium tumefaciens* и *A. rhizogenes*, содержащих *Ti* и *Ri* плазмиды соответственно, являются результатом экспрессии плазмидных генов, кодирующих биосинтез ИУК [27]: *tms* генов *A. tumefaciens* и *aux* генов *A. rhizogenes*. Эти гены кодируют обычно отсутствующие у высших растений ферменты триптофан-2-монооксигеназу и индол-3-ацетамидгидролазу, катализирующих биосинтез ИУК из триптофана [25]. В клетках растений, трансформированных *A. tumefaciens*, синтез ИУК происходит специфически: триптофан вначале превращается в индол-3-ацетамид, из которого затем и синтезируется ИУК. При трансформации растений (например, табака, баклажана, томата) другими бактериями (*Pseudomonas syringae* и *Antirrhinum majus* DefH9) наблюдается специфическая гиперэкспрессия *iaaM* и *iaaH* генов, проявляющаяся в усилении элонгации гипокотилей и ускоренном развитии плодов из неопыленных семязпочек в результате поступления в них больших количеств ИУК [28]. Как выяснено, ген *iaaM* кодирует триптофанмонооксигеназу — фермент, участвующий в превращении триптофана в индол-3-ацетамид, биотрансформирующийся впоследствии у растений в ИУК. Показано также, что проростки *Arabidopsis* и табака, трансформированные геном *iaaL* бактерий *Pseudomonas savastoni* (кодирующим фермент ИУК лизинсинтетазу), имеют короткие гипокотили из-за уменьшения количества свободной ИУК вследствие образования конъюгатов ИУК с лизином [29].

Существуют различные пути естественного биосинтеза ИУК, характерные для растений; в некоторых из них используется триптофан в качестве производного соединения из индола или ранних предшественников. Генетический анализ биосинтеза ИУК у *Arabidopsis* и кукурузы выявил, что ИУК является промежуточным соединением в антранилат-триптофановом пути биосинтеза [30, 31]. Предполагают, что существуют различные пути биосинтеза ИУК из триптофана: через индолил-3-пировиноградную кислоту, ИМК, триптамин и индол-3-ацетальдоксим [25, 31, 32].

Исследования ауксотрофных по триптофану мутантов растений показали, что биосинтез ИУК может также происходить по триптофан-независимому пути с участием предшественника ИАН, первоначально идентифицированного у семейства *Cruciferae*. Например, обнаружено, что у мутированных *trp3-1* и *trp2-1* ауксотрофных по триптофану растений *Arabidopsis* и кукурузы аккумулируются высокие уровни индол-3-глицерофосфата и ИАН, в то время как уровень свободной ИУК остается нормальным [32]. На основании этих данных, а также результатов экспериментов в бесклеточной системе из незрелого эндосперма кукурузы, показавших превращение радиоактивно меченного индола в ИУК, предложен триптофан-независимый путь биосинтеза ИУК из индола или индол-3-глицерофосфата [25, 31—33].

В настоящее время определены гены основных ферментов, участвующие в биосинтезе ИУК у триптофановых ауксотрофов: *TRP1* ген антранилатфосфорибозилтрансферазы, превращающей антранилат в 5-фосфорибозилантранилат, и *TRP3* ген триптофансинтазы α , катализирующей превращение индол-3-глицерофосфата в индол [30, 34]. Образующийся на последующих стадиях ИАН превращается в ИУК с помощью фермента нитриказы (*NIT*), которую кодируют по меньшей мере четыре гена [35]. Например, в ряде исследований обнаружено, что гиперэкспрессия гена *NIT2* в трансгенных проростках табака [36] и *Arabidopsis* [37] оказывает незначительный эффект на растения, а также на содержание в них ИУК при воздействии экзогенного ИАН вследствие того, что уровень синтеза эндогенного ИАН лимитирован. В то же время гиперэкспрессия генов *NIT1* и *NIT2* также при действии экзогенного ИАН во взрослых растениях *Arabidopsis* проявляется в существенном снижении общего содержания ИУК (свободной и ее конъюгатов) [37].

Исследования разных путей биосинтеза ИУК выявили, что ИАН может также являться продуктом ферментативного гидролиза (осуществляемого *NIT3*) индолгликозилатов, образующихся при триптофановом пути биосинтеза ИУК. Установлено, что на первом этапе из триптофана под действием фермента — члена семейства цитохромов P450 (монооксигеназ), кодируемого геном *CYP79B*, синтезируется общий предшественник ИУК и индолгликозилатов — индол-3-ацетальдоксим, из которого в дальнейшем образуется как ИУК, так и ее

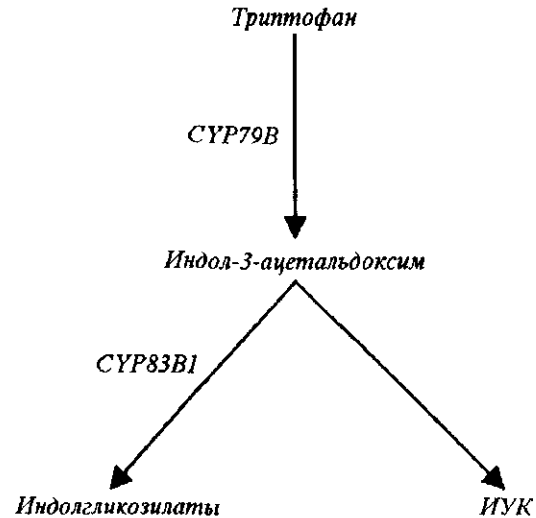


Рис. 1. Схема биосинтеза индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), из триптофана [38]: фермент — член семейства цитохромов P450 (монооксигеназ), кодируемый геном *CYP79B*, катализирует синтез индол-3-ацетальдоксима — общего предшественника ИУК и ее конъюгатов — индолгликозилатов, синтез которых катализирует другой фермент из семейства цитохромов P450, кодируемый геном *CYP83B1*

конъюгаты — индолгликозилаты (в частности, глюкобрассицин). Синтез последних катализирует другой фермент из семейства цитохромов P450, кодируемый геном *CYP83B1* [38, 39]. Полученные данные свидетельствуют об участии *CYP83B1* в контроле гомеостаза эндогенной ИУК (рис. 1).

Как свидетельствуют результаты генетического анализа, мутации *CYP83B1* гена *ntl1-1* являются аллельными и фенотипически подобными *sur-2* (*super root 2*) мутантам (аккумулирующим высокие уровни концентрации свободной ИУК и в то же время низкие — конъюгированной ИУК), у которых наблюдается усиление апикального доминирования и гиперэлонгация гипокотилей [40].

Противоположный *ntl1-1* мутантам фенотип наблюдается у растений *Arabidopsis* с эктопической гиперэкспрессией *CYP83B1* кДНК под 35S-промотором, которые фенотипически подобны *axr1* мутантным растениям с уменьшенным апикальным доминированием, короткими гипокотильями и сниженной фертильностью, что обусловлено редуцированной чувствительностью этих растений к ауксину [41].

Установлено, что при нормальных условиях экспрессия *CYP83B1* гена наблюдается в корнях, листьях, стеблях, цветках и тычинках [42], а при стрессовых факторах (вызванных повреждениями или дегидратацией) и под действием ауксина уси-

ление экспрессии *CYP83B1* гена происходит преимущественно в корнях [43]. В промоторе *CYP83B1* гена идентифицированы четыре ауксин-ответных *cis*-элемента, что подтверждает регуляцию экспрессии гена *CYP83B1* ауксином [44].

В последнее время появились данные о том, что в регуляции катаболизма ИУК значительную роль играют пероксисомы, являющиеся важными органеллами, участвующими в липидном метаболизме, фиксации азота, фотореспирации и разрушении перекиси водорода; они также служат местами поздних этапов биосинтеза жасмоновой кислоты и ИУК у растений [45, 46]. Пероксисомы активны на всем протяжении онтогенеза растений: от эмбриогенеза, прорастания семян и развития цветков до фазы старения. Недавними исследованиями выявлены ведущая роль пероксисом в фотоморфогенезе и их защитные функции при воздействии абиотических стрессовых факторов: ферменты пероксисом участвуют в образовании и распаде реактивных соединений кислорода (ROS) — сигнальных молекул, регулирующих экспрессию ядерных генов и оказывающих повреждающее действие на клетку в случае их избыточного образования [47].

Установлено, что проростки и стареющие ткани растений содержат специализированные пероксисомы — глиоксисомы, синтезирующие свыше 20 ферментов для β -окисления жирных кислот (ЖК) и аминокислот. Образующийся в результате ферментативного расщепления ЖК ацетил-коэнзим А (ацетил-СоА) превращается в сукцинат и транспортируется в митохондрии, где вступает в цикл реакций трикарбоксикислот с образованием углеводов [48]. Результаты экспериментов с меченым ауксином показали, что у различных видов растений довольно распространен способ биосинтеза ИУК из предшественника ИМК [49]. Поскольку при синтезе ИУК цепь ИМК сокращается на два углеродных атома, возникло предположение о том, что этот процесс происходит подобно β -окислению ЖК в глиоксисомах.

Как выяснено, ключевую роль в различных процессах пероксисомного биогенеза (включая образование мембран, белковый импорт и пролиферацию этих органелл) выполняют РХА и РЕХ белки [45, 46, 50]. Для подробного исследования молекулярных механизмов биосинтеза ИУК проведен генетический анализ *pxa1* мутантов *Arabidopsis*, устойчивых к ингибирующему действию ИМК

и синтетического ауксина 2,4-ДМ (2,4-дихлорофеноксималяной кислоты) на элонгацию корней, однако способных нормально реагировать на воздействие ИУК, синтетических ауксинов 2,4-Д (2,4-дихлорофеноксисукусной кислоты) и НУК (нафтил-1-уксусной кислоты) [51].

У мутантных растений наблюдается замедление процессов прорастания и дальнейшего развития в среде для прорастивания без сахарозы, что свидетельствует о выраженных дефектах в пероксисомном β -окислении ЖК и в отсутствии энергии, используемой растениями в период прорастания до начала процесса фотосинтеза. Поскольку биосинтез ИУК из ИМК происходит параллельно с процессом β -окисления ЖК, следовательно, *pxa1* мутанты являются ИМК-устойчивыми, так как не способны превращать ИМК в ИУК. Дефекты, проявляющиеся в ходе морфогенеза этих мутантов, указывают на то, что *PXA1* ген играет онтогенетически важную роль.

Молекулярно-биологическими методами установлено, что *PXA1* ген кодирует уникальный пероксисомный АТФ-связывающий кассетный мембранный белок — транспортер ЖК (АТФ-binding cassette (ABC) protein), гомологичный членам суперсемейства ABC-АТФаз, представляющих собой АТФ-движущие помпы или каналы, транспортирующие разнообразные субстраты от небольших ионов до полипептидов с большой молекулярной массой (м. м.) через мембраны (у *Arabidopsis*, к примеру, идентифицировано свыше 100 ABC-транспортеров) [52].

Выяснено также, что РХА белок на 24—30 % идентичен двум пероксисомным мембранным ABC-транспортерам грибов (*Pxa1p/Pa2p/Pa11p* и *Pxa2p/Pa11p*) [53] и на 36—45 % — четырем ABC-транспортерам (*PMP70/PXMP1*, *P70R*, *ALDP* и *ALDRP*), обнаруженным у человека [54]. Мутации гомолога *PXA1* — белка *ALD* (*adrenoleukodystrophy*) являются летальными. У пациентов с синдромами Зельвегера и X-ALD аденолейкодистрофии, ассоциирующимися с дефектами пероксисомного β -окисления ЖК, аккумулируется большое количество длинноцепочечных ЖК в сыворотке крови и во всех тканях организма, что приводит к надпочечной недостаточности и разрушению в центральной нервной системе миелина [46, 54]. В синтезе последнего участвует также другой гомолог *PXA1* белка — ABC белок Р-гликопротеин, транспортирующий фосфолипиды (смешанные эфиры ЖК и

фосфорной кислоты с глицерином — глицерофосфолипиды, такие как фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозит, а также сфингофосфолипиды — производные церамида, сфингомиелины) через плазматические мембраны [55]. Фосфолипиды в виде комплексов с белками и в свободном состоянии входят в состав мембран клеток различных тканей, большое их количество присутствует в тканях головного мозга и периферической нервной системы (цереброзиды, ганглиозиды и др.).

Гомология белка *PXA1* по отношению к белку *ALD* и другим пероксисомным транспортерам, выявленным как у человека, так и у грибов, свидетельствует о том факте, что белок *PXA1* участвует в транспорте ацил-*CoA* эфиров ЖК и ИМК из цитоплазмы в пероксисому для β -окисления.

Поскольку пероксисомы не имеют собственной ДНК, пероксисомные матричные белки-ферменты (ПМБ), необходимые для β -окисления ЖК, ИМК и др. пероксисомных процессов, синтезируются в цитоплазме, а затем экспортируются в пероксисому [56]. Обнаружено, что ПМБ имеют N-терминальные PTSs (peroxisomal targeting signals) последовательности, определяющие их связывание с цитоплазматическими белками-рецепторами, которые у растений кодируются *PEX5* и *PEX7* генами, импортирующими ПМБ в пероксисому с участием АТФаз мембран [46, 56].

Известно, что мутантные растения, устойчивые к ингибирующему действию ИМК или ее синтетического аналога 2,4-ДМ (метаболизирующейся при β -окислении в пероксисомах в ауксин 2,4-Д), являются дефектными в биосинтезе различных ПМБ, таких как ацил-*CoA* оксидаза (мутации *acx3*) [57], многофункциональный белок (мутации *aim1*) [58] и тиолаза (мутации *ped1*) [59]. Выяснено также, что поскольку процесс β -окисления ЖК у растений происходит только в пероксисомах (у животных — в пероксисомах и митохондриях), мутации пероксисомных мембранных белков (через которые осуществляется транспорт ЖК в пероксисому), а также белков-рецепторов (транспортирующих ПМБ в пероксисому) могут нарушать β -окисление ЖК, а также ИМК. Например, *rex5* мутанты, дефектные в синтезе цитоплазматического рецептора *PEX5*, нечувствительны к ИМК [51], а 2,4-ДМ-устойчивые *ped2* мутанты являются дефектными в синтезе пероксисомного мембранного белка *PEX14* [60].

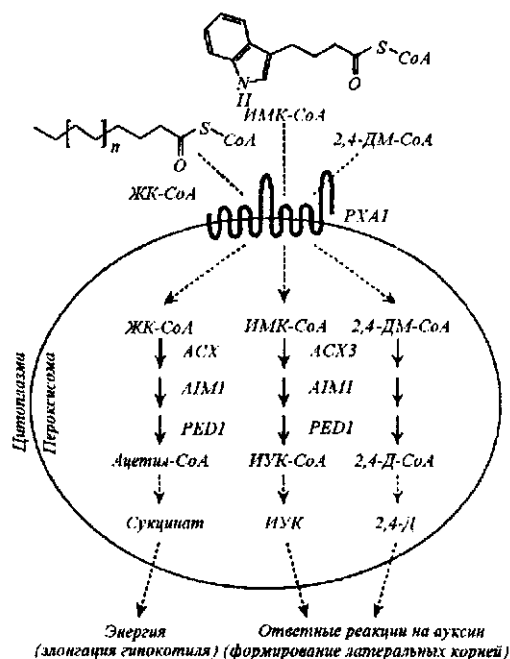


Рис. 2. Предполагаемая модель функции белка *PXA1* у *Arabidopsis* [46]. Гомологичный белкам человека и грибов белок *PXA1* локализуется в пероксисомной мембране и осуществляет транспорт ацил-*CoA* эфиров жирных кислот (ЖК-*CoA*), индолил-3-масляной кислоты (ИМК-*CoA*), а также 2,4-дихлорофеноксимасляной кислоты (2,4-ДМ-*CoA*) в пероксисому, где они превращаются в сукцинат, индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) и 2,4-дихлорофеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) соответственно. Устойчивые к воздействию ИМК и 2,4-Д мутантные растения являются дефектными по ацил-*CoA* оксидазе (*acx3*), мультифункциональному белку (*aim1*) и тиолазе (*ped1*), что прямо доказывает участие этих ферментов в β -окислении ИМК и 2,4-ДМ в пероксисоме

На основании исследований ИМК- и 2,4-ДМ-устойчивых мутаций предложена гипотетическая модель пероксисомного превращения ИМК в ИУК, происходящего подобно процессу β -окисления ЖК (рис. 2). В соответствии с данной схемой, белок *PXA1* транспортирует ацил-*CoA* эфиры ЖК в пероксисому, где они в процессе β -окисления превращаются в ацетил-*CoA*, метаболизирующийся в результате ферментативного расщепления в сукцинат через глиоксилатный цикл [46, 48]. Так как *pxa1* мутанты устойчивы к ИМК и ее аналогу 2,4-ДМ, возможно, что белок *PXA1* экспортирует ацил-*CoA* эфиры ИМК и 2,4-ДМ в пероксисому для окисления в ИУК-*CoA* и 2,4-Д-*CoA* соответственно [51]. Эти соединения подвергаются гидролизу и в виде ИУК и 2,4-Д экспортируются из пероксисомы, вызывая в дальнейшем специфические фенотипы

ческие эффекты, наиболее значительными из которых являются ингибирование элонгации главных или стержневых корней и инициация формирования латеральных или придаточных корней. Данные многих экспериментов, свидетельствующих о стимулирующем действии ИМК и 2,4-ДМ на формирование придаточных корней у диких типов растений и об отсутствии подобной морфологической реакции на воздействие ИМК и 2,4-ДМ у *pxal* мутантов, служат подтверждением предложенной гипотезы.

Большое количество возможных путей биосинтеза ИУК, образования ее конъюгатов, а также их распада свидетельствует о существовании комплексного гомеостатического механизма, контролирующего содержание этого фитогормона. В тканях растений ИУК в основном присутствует в виде конъюгатов с аминокислотами, пептидами или углеводами, которые могут быть гидролизваны до свободной ИУК, причем вегетативные органы характеризуются значительно меньшим количеством свободных форм ИУК, а в генеративных (особенно в зрелых семенах) преобладают конъюгированные формы, являющиеся биологически неактивными запасными формами ИУК и служащие для поддержания гормонального гомеостаза [25, 26, 61].

Например, при анализе содержания катаболитов ИУК в зернах кукурузы идентифицированы преимущественно содержащие эфирную связь конъюгаты: ИУК—глюкоза, ИУК—миоинозитол, ИУК—миоинозитолгликозиды, а также конъюгированные с ИУК целлюлозогликаны — все вместе составляющие около 97—99 % от общего пула ИУК эндосперма семян [62]. Этерифицированная ИУК является преобладающим конъюгатом также в зернах риса (содержащих 62—70 % соединенных эфирной связью конъюгатов) [63], в жидком эндосперме каштана и семенах овса (содержащих 80 % конъюгированной ИУК) [64]. У многих растений в динамике изучено изменение содержания конъюгатов ИУК на разных этапах онтогенеза: например, на ранних стадиях развития семян фасоли максимальный уровень этерифицированной ИУК составляет 35 %, а свободной — около 40 % от общего пула ИУК [65]; затем в течение созревания семян происходит снижение уровней этерифицированной ИУК (до 13 %) и свободной ИУК (до 6 %) от общего пула ИУК; на стадии полной зрелости преобладают конъюгаты ИУК, соединенные амид-

ной связью с полипептидами и белками (80 % от общего пула ИУК) [66]. В отличие от фасоли, в семенах сои на стадии зрелости наиболее преобладают конъюгаты ИУК с аминокислотами (аспартаты и глутаматы), имеющие более низкую м. м. [67].

При помощи методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии идентифицированы катаболиты и конъюгаты ИУК на протяжении всего вегетативного роста многих растений, включая *Arabidopsis*, кукурузу, табак, томаты, фасоль, сою, рис, овес, каштан, тополь, сосну [26, 68]. Например, при анализе различных тканей *Arabidopsis* с использованием меченых стандартов: катаболита 2-оксииндол-3-уксусной кислоты, а также конъюгатов ИУК с аминокислотами (аспартатов, глутаматов, комплексов ИУК с аланином и лейцином) показано, что в элонгирующих листьях и корнях присутствуют сравнительно высокие концентрации свободной ИУК и наивысшие — ИУК-аспартата, ИУК-глутамата и 2-оксииндол-3-уксусной кислоты, в то время как конъюгаты ИУК с лейцином наиболее сконцентрированы в корнях, а конъюгаты ИУК с аланином — в аэральных тканях [68]. В процентном соотношении уровень этерифицированных конъюгатов ИУК у *Arabidopsis* составляет 8—10 %, а уровень конъюгатов ИУК с аминокислотами — около 2—3 % по отношению к общему пулу ИУК. Методами генетического и молекулярно-биологического анализов идентифицированы и клонированы гены ферментов, участвующих как в образовании различных конъюгатов ИУК, так и в их гидролитическом расщеплении. В частности, в незрелых семенах гороха и эндосперме кукурузы выявлены гены ферментов, катализирующих формирование этерифицированных конъюгатов ИУК: IAGLc синтазы, причастной к образованию сложного эфира ИУК с глюкозой — 1-О-индол-3-ацетил- β -D-глюкозы [68], ИУК-мио-инозитолтрансферазы (IAInos трансферазы), катализирующей последующий синтез ИУК-миоинозитола из предшественника 1-О-индол-3-ацетил- β -D-глюкозы [69], идентифицирована семья серинкарбоксипептидаз-подобных ацилтрансфераз, имеющих высокую степень гомологии и подобия с IAINos трансферазой [70], а также гены гидролаз, обладающих специфичностью действия по отношению к определенным комплексам ИУК—аминокислота, например, кодирующих ИУК-Ала гидролазу (IAR3) у *Arabidopsis* [25, 71].

До недавнего времени считалось, что катаболизм ИУК осуществляется только через окислительное декарбоксилирование под действием ИУК оксидазы. Однако, как выяснено, мажорный путь катаболизма ИУК *in vivo* проходит через окисление ИУК в 2-оксииндол-3-уксусную кислоту и последующее гликозилирование за счет присоединения 7-гидроксигруппы [72, 73]. Другой катаболический путь ИУК осуществляется через образование комплекса ИУК—ацетиласпартат с последующим его окислением в диоксииндол-3-ацетиласпартат-3-О-гликозид [25].

Регуляторные механизмы контроля ауксинами клеточного цикла. Известно, что морфогенетическая программа развития растений реализуется посредством двух основополагающих процессов: образования *de novo* клеток в меристемах — митоза и последующего растяжения этих новообразованных клеток [25, 74]. В настоящее время на молекулярном уровне выяснены механизмы регуляции ауксином этих ключевых процессов дифференциации клеток.

Регуляция ауксинами митотического цикла осуществляется с помощью гетеродимерных белковых комплексов, состоящих из каталитической субъединицы — циклин-зависимой киназы (CDK) и регуляторной субъединицы — циклина.

Циклины впервые идентифицированы в яйцах морского ежа (*sea urchin eggs*) как белки, количество которых увеличивается в течение интерфазы и затем снижается в процессе митоза или мейоза [75, 76]. Впоследствии циклины обнаружены у разных организмов, в том числе у грибов и человека. Выяснилось, что они содержат консервативную аминокислотную последовательность, известную как *cyclin box* [77, 78], необходимую для активации CDK [79]. Клеточный цикл эукариотной клетки координируется последовательной активацией циклинами CDK, осуществляющей в обратном порядке фосфорилирование циклинов [75, 80].

С момента открытия циклинов в 1991 году у различных растений было определено большое количество генов циклинов. Свыше 60 кДНК, кодирующих гомологи циклинов, идентифицированы и классифицированы у 14 различных видов растений [75, 79, 81—83]; из них более 15 различных генов циклинов выявлены у *A. thaliana*. По данным секвенирования гены всех известных растительных циклинов можно разделить на девять классов: A1, A2, A3, B1, B2, D1, D2, D3 и D4 [75, 84]. У

большинства эукариотных клеток, включая высшие растения, гены В-класса циклинов экспрессируются специфически на протяжении G2/M фазы клеточного цикла. Промоторы генов В-класса циклинов растений содержат общий *cis*-активный элемент, называемый *MSA* элементом, необходимый для фазоспецифической активации промотора [85]. *MSA*-подобные последовательности также найдены в промоторах G2/M-специфических генов, кодирующих кинезин-подобные белки, что свидетельствует о регуляции определенного ряда G2/M-специфических генов общим *MSA*-опосредованным механизмом у растений. Последовательность *MSA* элементов подобна связующим сайтам *Muv* транскрипционных факторов животных [75], что свидетельствует о возможной роли *Muv* факторов растений в индукции генов В-типа циклинов и других генов, участвующих в регуляции клеточного цикла растений.

CDK у всех эукариотов проявляют свою активность через фосфорилирование специфических субстратов по серин/треониновым концам [84]. Такие посттрансляционные модификации являются универсальным механизмом регуляции проведения различных сигналов. Они обеспечивают организмам дифференцировку, регулируют рост и адаптацию к окружающим изменениям, что является особенно важным для растений вследствие их неподвижного образа жизни. Длительный органогенез, пластичный рост и тотипотентность помогают растениям противостоять нежелательным условиям. У растений обнаружено более 30 видов CDK [80, 84, 86—91], разделенных по номенклатуре на пять классов [92]. Наиболее многочисленным классом CDK являются функциональные гомологи грибов — p34cdc2/CDC28 белки, содержащие характерный PSTAIRE мотив, играющий существенную роль в присоединении циклинов. CDK конститутивно экспрессируются на протяжении всего клеточного цикла, и функции их ассоциируются с компетентностью клеток к делению и митотической активностью [86, 87, 90].

Например, у *A. thaliana* идентифицированы четыре класса CDK [84, 90]: CDC2aAt принадлежит к наиболее охарактеризованному А-классу CDK у растений, имеющему высокую степень идентичности последовательностей к эукариотным CDK (63—67%), типичными представителями которых являются CDC2/CDC28 грибов и CDK1 и CDK2 животных. CDC2aAt содержит консерватив-

ную PSTAIRE последовательность в циклин-присоединяющем домене и является единственным геном у *Arabidopsis*, который функционально комплементарен температурочувствительным *cdc2* мутантам *Schizosaccharomyces pombe* [84, 91, 93].

К В-классу, или PPT(A/T)LRE, CDK принадлежат CDC2bAt- и CDC2fAt-подобные киназы, общими характерными чертами которых являются наличие неконсервативной PSTAIRE последовательности в циклин-присоединяющем домене, отсутствие комплементарности к *cdc2/CDC28* мутантам грибов и их зависимость от фазы клеточного цикла экспрессия [90, 94]. Методами аффинной и ионообменной хроматографии идентифицированы CDC2fAt — аналог CDC2MsF *Medicago sativa*, а также другие CDC2MsD гомологи *Arabidopsis*, относящиеся к В-классу CDK.

С помощью иммунологического анализа антител к CDC2MsD идентифицирован белок с м. м. 35 кДа в комплексе с белками 158 и 75 кДа, проявляющими активность киназ гистона H1 [84, 95]; к менее многочисленным классам киназ относятся CDKC, CDKD и CDKE. По результатам исследований установлена роль различных CDK в делении клеток, пространственном контроле и ориентации плоскости деления и размера клеток [76, 80, 84, 88—92].

Многочисленные эксперименты показали, что киназы контролируют как развитие, так и дестабилизацию препрофазной перегородки (PPB). В частности, микроинъекции активной CDC2 киназы в клетки *Tradescantia* вызывают быструю деполимеризацию PPB и индуцируют преждевременное разрушение ядерной оболочки [96, 97]; противоположный эффект наблюдался при ингибировании CDC2 киназы специфическими ингибиторами, что приводило к задержке клетки в G2 фазе и стабилизации PPB [98, 99].

Циклин-зависимые киназы могут оказывать влияние на активность MAP (ассоциированных с микротрубочками (MT) белков); в частности, ингибирование MAP CDC2 киназой способствует переводу MT в высокодинамический статус и регулирует активность белков-транслокаторов, поддерживающих bipolarность митотического веретена [100].

CDK/циклиновые комплексы находятся под влиянием различных факторов и продуктов экспрессии генов, что подтверждает инициацию прохождения клеточного цикла как интегральной части программы роста и развития в ответ на сигналы

окружающей среды [75, 86, 87]. К наиболее важным функциям, выполняемым CDK/циклиновыми комплексами, относятся регуляция клеточного цикла, контроль транскрипции и клеточного метаболизма [75, 76, 84, 88, 89, 101].

Субстратами CDK/циклиновых комплексов являются белки, регулирующие транскрипцию, белки цитоскелета, белки, ассоциированные с хроматином (гистон H1), белки ядерной мембраны, регуляторный белок Rb [90, 102], а также многочисленная группа влияющих на полимеризацию, стабильность и пространственное расположение MT и актиновых филаментов белков-стабилизаторов или дестабилизаторов и моторных белков, к числу которых относятся: разные виды MAP, присутствующие у всех растений; белки, участвующие в дестабилизации MT в период перехода клетки из одной фазы клеточного цикла в другую, в частности, универсальный для всех организмов цитозольный фосфопротеин Op 18/stathmin [103]; транслокаторы MT, участвующие в образовании митотического веретена, и моторные KLPs белки (kinesin-like proteins), причастные к поддержанию его bipolarной структуры [104], а также универсальный для всех растений отрицательно заряженный моторный KCBP белок (kinesin-like calmodulin binding), соединяющийся с MT с помощью кальций/кальмодулинового комплекса [105]; имеющие положительный заряд моторные белки, например, идентифицированный в клетках табака TKRP125 белок (tobacco kinesin-related polypeptide) с м. м. 125 кДа, функция которого также сводится к поддержанию bipolarности фрагмопласта [106]; α -тубулин и ассоциированные с ним белки, белки centrosом [107], такие как центрин [108]; белок — гомолог фактора элонгации EF1- α [109] и другие белки, непосредственно участвующие в пространственном формировании MT в организованные центры микротубочек (MTOCs), коими являются centrosомы [110]; белки — миозины, динеин-подобные полипептиды, белки — гомологи кинезина и семья ассоциированных с актиновыми филаментами белков виллинов/гельсолинов, участвующих в контроле организации актинов. Обнаружено, что все эти моторные белки взаимодействуют с кальмодулином и активность их регулируется Ca^{2+} -зависимым образом [111—116].

Регуляция CDK/циклинового комплекса осуществляется на разных уровнях: активация его происходит через фосфорилирование при участии

CDK-активирующей киназы CAK1At (CDK-activating kinase), ответственной за фосфорилирование Thr-160 конца CDK, обнаруженного в разных организмах [91, 111—119]; ингибируется же этот комплекс в случае присоединения SKI — негативных регуляторов CDK с последующим протеолизом субъединиц циклинов [84].

Существуют многочисленные факты, служащие доказательством того, что контроль клеточного цикла ауксинами осуществляется за счет регуляции экспрессии генов, кодирующих разные классы CDK и циклинов. Например, результаты наблюдений за транскрипционной активностью генов CDK и циклинов показывают, что в обработанных ауксинами клетках и органах различных видов растений индуцируется синтез CDC2aAt протеинкиназы, принадлежащей к А-классу CDK; формирующийся впоследствии CDC2a/Arath:СусD3:1 комплекс инициирует прохождение S-фазы клеточного цикла через фосфорилирование Rb белка ретинобластомы (retinoblastoma protein), обнаруженного как у млекопитающих, так и растений [84, 86, 89, 90, 93, 95, 102], с последующим высвобождением фактора транскрипции E2F, необходимого для транскрипции генов, активных в S-фазе, в частности, А-класса циклинов.

Другие данные свидетельствуют о том, что при обработке корней *Arabidopsis* экзогенным ауксином индуцируется экспрессия гена митотического циклина *СУСВ1:1* [120]. Противоположный эффект наблюдается при отсутствии ауксина в суспензионной культуре клеток *Arabidopsis*, проявляющийся в выраженном снижении уровней мРНК генов *СУСА2:1*, *СУСА2:2*, *СУСВ1:1*, *СУСВ2:2* [84, 89, 121], что также является подтверждением регуляции ауксином транскрипции этих циклинов.

В некоторых работах выяснено, что позитивное влияние ауксина на деление клеток осуществляется через деградацию ингибиторов экспрессии генов CDK [84, 122]. Другие данные об индукции транскрипции генов CDK — *CDC2At* и *CDC2Pet* под влиянием ауксинов получены в суспензионно-культуриваемых клетках табака и *Arabidopsis* [93]. Воздействие ауксином вызывает быстрое возрастание уровней мРНК, кодирующих р34cdc2-подобные белки в клетках корней табака. При этом установлено, что для активации ауксином клеточного цикла необходимо присутствие цитокинина [84, 123, 124]. Кроме того, в *CDC2At* промоторе идентифицирован ауксин-связывающий элемент [123, 125],

что указывает на прямое участие ауксина в регуляции экспрессии генов клеточного цикла.

В последние годы получены также данные о том, что в клетках растений и животных многочисленные семейства митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) причастны к передаче различных типов сигналов из окружающей среды (ЕРК типы МАРК) и от фитогормонов. К ним относятся киназы — стимуляторы митоза, дифференциации и пролиферации клеток и стресс-активируемые протеинкиназы (SАРК), в том числе SАРК1 (JNK) и SАРК2 (р38) изоформы киназ, участвующие в ингибировании пролиферации клеток [126—129]. Первые МАРК растений открыты в 1989 году, а уже в 1998 году количество известных МАРК насчитывало более 500, в том числе 175 обнаруженных у *A. thaliana* [130, 131]; разные гены, кодирующие МАРК, идентифицированы также в люцерне [132], овсе [133], петунии [134], табаке [135] и петрушке [136].

При изучении гомологии аминокислотных последовательностей МАРК методом секвенирования показано, что известные в настоящее время МАРК растений наиболее подобны ЕРК-типам, и существуют данные об их роли в различных формах биотических и абиотических стрессов. ЕРК-подобные МАРК можно разделить, по меньшей мере, на четыре различные подгруппы [126]. В соответствии с этой номенклатурой, МАРК I и II подгрупп участвуют в передаче сигналов в ответ на воздействии патогенов и абиотический стресс [136—138], в то время как некоторые МАРК III и IV подгрупп вовлечены в регуляцию клеточного цикла [139, 140].

Например, обнаружено, что активность МАРК коррелирует с образованием фрагмопласта, кроме того, МАРК регулирует стабильность МТ через фосфорилирование специфических эффекторов (ассоциированных с МТ белков-стабилизаторов или дестабилизаторов, а также моторных белков), участвует в регуляции транспорта синтезирующихся молекул вдоль фрагмопласта или диффузии этих молекул в клеточную пластинку (РРВ) за счет фосфорилирования положительно заряженных моторных белков [141]. Сеть серин/треониновых протеинкиназ в клетках растений является универсальным механизмом передачи сигналов и функционирует как единый центральный процессор (central processor unit-cpu), принимая информацию, поступающую от рецепторов, чувствительных к

сигналам окружающей среды, таких как свет, изменение температуры, гравитация, атаки микробов или осмотический дисбаланс, а также фитогормоны, и далее на основании этой информации вызывает изменения в экспрессии генов, делении, метаболизме и росте клеток, способствуя таким образом адаптации растений к окружающей среде [126—129, 142, 143].

Активирование MAPK происходит с помощью MAPK киназ (МАРКК), имеющих верхний уровень регуляции по отношению к MAPK, через фосфорилирование треониновых и тирозиновых концов, расположенных вблизи VIII киназного домена у всех MAPK [144, 145]. В свою очередь, МАРКК также активируются посредством фосфорилирования киназами, принадлежащими к классу МАРКК киназ (МАРККК), имеющих верхний уровень регуляции по отношению к МАРКК, к которым относятся Raf и Mos белки [146].

Три вида специфических функционально взаимосвязанных протеинкиназ (МАРК, МАРКК, МАРККК) формируют основной модуль MAPK пути. Другие МАРККК киназы (МАРКККК) или G белки, такие как Ras белки или их гетеротримерные комплексы, функционируют как посредники между чувствительными к внеклеточным сигналам и локализованными в плазматической мембране белками-рецепторами и MAPK модулем [147, 148].

Проведенные биохимические и генетические исследования [149, 150] подтвердили существование MAPK-каскадного механизма в опосредовании сигналов ауксинов и других фитогормонов [132, 138, 151—154]. Как показал генетический анализ чувствительных к ауксину мутантов грибов, к кодируемым *TIR1* геном F-box белкам (являющимся частью E3 убиквитинлигазного комплекса, проявляющего специфичность в связывании и фосфорилировании ауксин-регулируемых Aux/IAA белков для их последующей деградации в протеасоме) принадлежат регуляторы G1 фазы клеточного цикла, например CDK — ингибитор p40sic1 и G1 циклины [155, 156]. Общие PEST-последовательности, характерные для большинства этих белков, являются сайтами фосфорилирования для пролин-специфических киназ: CDK MAPK и гликогенсинтетазы киназы 3 (GSK3), участвующей в деградации p40sic1 и G1 белков [157]. Возможными участниками *TIR1*-опосредованного протеолиза являются белки, регулирующие транскрипцию ауксин-индуцируемых генов: ауксин-регулируемый трансфак-

тор (ARF1) и Aux/IAA белки [149]. По этому сценарию, ауксин-зависимые киназы фосфорилируют регуляторные Aux/IAA белки (вероятно, являющиеся репрессорами транскрипции ауксин-индуцируемых генов) и участвуют в их деградации.

Получены данные о стимулирующем влиянии синтетических ауксинов 2,4-Д и НУК, а также природного ауксина ИУК на фосфорилирующую активность MAPK. Например, усиление фосфорилирующей активности основного белка миеллина (MBP), а также рекомбинантной MAPK наблюдалось при обработке *in vitro* ВУ-клеток табака синтетическим ауксином 2,4-Д [131, 150]. Быстрое возрастание фосфорилирующей активности MAPK с м. м. ~44 кДа, проявляющей специфичность по отношению к MBP, происходило в ответ на воздействие ауксина в корнях проростков *Arabidopsis*.

Подобная активация MAPK, имеющих характеристики ERK-подобных MAPK млекопитающих, наблюдалась в корнях *Arabidopsis*, обработанных как природным ауксином ИУК, так и синтетическими ауксинами: НУК и 2,4-Д [137]. При генетическом определении ауксин-индуцируемого MAPK сигнального пути в резистентных к воздействию ауксина *axr4* мутантах *Arabidopsis* отмечено снижение киназной активности более чем на 40 % при обработке ауксином [158].

Существуют также сведения об ингибирующем влиянии MAPK на экспрессию ауксин-индуцируемых генов, полученные в экспериментах по трансформации мезофильных протопластов табака конструкцией, содержащей репортерный ген под контролем ауксин-регулируемого промотора. Результаты этих работ показали, что конститутивно активная МАРККК табака (NPK1), в норме присутствующая во всех делящихся клетках, активирует MAPK-подобный белок, специфически ингибирующий ауксин-индуцируемую экспрессию генов [159, 160]. Полученные факты можно интерпретировать следующим образом: активирующиеся в процессе митоза NPK1 и MAPK-подобный белок могут предотвращать проведение сигналов ауксина в делящейся клетке, чтобы избежать взаимовлияния стимулируемых ауксином процессов, например, растяжения и деления клеток.

В настоящее время идентифицирован еще один регуляторный компонент MAPK-сигнального пути ауксина — MAPK фосфатаза, регулирующая активность MAPK, и показана важная роль этого фермента в ауксин-индуцируемом росте *Arabidop-*

sis [161]. В частности, при исследовании группы устойчивых к воздействию ауксина мутантов изолирована *ibr5* мутантная линия растений, проявляющих незначительную чувствительность к ИМК и практически невосприимчивых к ингибирующим концентрациям ИУК, синтетических ауксинов 2,4-Д, 2,4-ДМ и НУК, к ингибиторам транспорта ауксинов — 1-нафтилталамовой и 2,3,5-трийодбензойной кислотам, а также к абсцизовой кислоте (АБК). Фенотип *ibr5* мутантов подобен таковому других резистентных к ауксину мутантов, например, выросших при освещении и имеющих длинные корни и короткие гипокотили *axr1* мутантов. Кроме того, выяснено, что в результате этих мутаций нарушается нормальное развитие сосудистой системы, увеличивается зубчатость листьев и снижается аккумуляция ауксин-индуцируемых переносчиков.

Методом иммуноблотинга и промотор-репортерного генетического анализа установлено, что экспрессия *IBR5* гена наблюдается во всех тканях и органах диких цветущих покрытосеменных растений. Показано, что *IBR5* кодирует белок, состоящий из 257 аминокислотных остатков (а. о.), имеющий каталитический домен (49—182 а. о.), на 35 % идентичный таковому, присутствующему у МАРК фосфатаз человека (МКР1 и РАС1) [162].

В ходе исследований обнаружено, что кодируемая *IBR5* геном МАРК-фосфатаза проявляет дефосфорилирующую активность по отношению к сигнальным компонентам как ауксина, так и АБК, на основании чего сделан вывод о двойственной специфичности данной МАРК, модулирующей сигнальные пути и ауксинов, и АБК.

Последующие детальные исследования мутантов с нарушенным ответом на воздействие ауксинов будут способствовать формированию более корректного представления о стимулирующем или ингибирующем влиянии этих фитогормонов на прохождение клеточного цикла.

Ауксин-регулируемые гены, контролирующие растяжение клеток. Ауксины являются фитогормонами, стимулирующими элонгацию клеток [25]. В настоящее время известно, что рост клеток растений инициируется процессом поглощения воды, происходящим в результате стрессового расслабления клеточных стенок [74]. Стимулируя рост, фитогормоны вызывают растяжение клеточных стенок, однако возникает вопрос, каким способом это осуществляется? Теория «кислого» роста постулирует, что в плазмалемме ауксин индуцирует

работу H^+ -помпы и секрецию ионов водорода в клеточную стенку, вследствие чего матрикс клеточных стенок закисляется. Снижение величины рН в апопласте усиливает активность гидролитических ферментов, «разрыхляющих» клеточные стенки, что является необходимым условием для роста клеток растяжением. Однако теория «кислого» роста не является универсальной и общепринятой. Например, критики подчеркивают, что значение рН клеточной стенки в обработанных ауксином элонгирующих тканях значительно не снижается. Тем не менее, все постулаты, касающиеся «кислого» роста, характерны, например, для роста, индуцированного грибным токсином фузикоцином. К сожалению, технические трудности, такие как определение рН клеточной стенки, являются фактором, препятствующим принятию правильного решения в возникшей дискуссии.

Ключом к пониманию механизма ауксин-регулируемой элонгации клеток, несомненно, являются детальные исследования биогенеза белковых и небелковых компонентов клеточной стенки, а также гидролитических ферментов со специфической по отношению к этим компонентам активностью. Согласно полученным на протяжении последних лет данным, у растений обнаружены пять основных классов белков клеточной стенки, играющих центральную роль в процессе роста клеток растяжением [163]. К ним относятся гидроксипролин-обогащенные гликопротеины (HRGPs) — экстенсины и экспансины, глицин-обогащенные белки (GRPs), пролин-обогащенные белки (PRPs), лектины пасленовых и арабиногалактановые белки. Перечисленные белки клеточной стенки выполняют множественные функции, основной из которых является участие в организации углеводного каркаса первичной клеточной стенки, что указывает на их существенную роль в регуляции роста клеток растяжением. Все эти классы белков являются эволюционно и функционально близкими по гидроксипролин-обогащенным остаткам и подобны по нуклеотидной последовательности их генов. Помимо вышеуказанных в клеточной стенке обнаруживаются и другие типы белков, такие как цистеин-обогащенные тионеины, 28- и 70-кДа водорегулируемые белки, обогащенные гистидином и триптофаном белки. Из небелковых компонентов в клеточных стенках помимо целлюлозы и гемицеллюлозы, образованных разными видами полисахаридов, найдены также пектин (состоящий из гомогалактуроновых и рам-

ногалактуроновых полисахаридов), лигнин, кутин, суберин и другие продукты вторичного синтеза [164—166].

Широкий ряд ферментов катализирует модификацию и участвует в расщеплении полисахаридных компонентов гемицеллюлозного матрикса первичной клеточной стенки в период роста клеток растяжением: пероксидазы, фосфатазы, инвертазы, α - и β -маннозидазы, β -1,3-глюканазы, β -1,4-глюканазы, декстраназы (β -1,6-D-глюкан-6-глюканогидролазы) и ксилоглюканэндотрансгликозилазы (ХЕТ), пектиновые экзо- и эндополигалактуроназы, пектинлиазы и метилэстеразы, малатдегидрогеназы, арабинозидазы, α - и β -галактозидазы, β -глюкуронозидазы, β -ксилозидазы, протеазы и оксидаза аскорбиновой кислоты [167—169].

К белкам, функционирующим в цитоплазме и обеспечивающим синтез вторичной клеточной стенки, относятся [170, 171]: 1) целлюлозосинтетаза (β -1,4-глюкансинтетаза) — ключевой фермент синтеза целлюлозы (1,4- β -глюканов) из предобразованных блоков (молекул глюкозы) — локализуется и функционирует (как и другие ферменты, участвующие в синтезе предшественников целлюлозы) в плазмалемме клеток (в ее толще), хотя, по некоторым данным, целлюлозосинтетаза имеет бимодальное распределение (т. е. расположена как в приграничной с плазмалеммой зоне клеточной стенки, так и в самой плазмалемме); 2) каллозосинтетаза — мажорный полимер, продуцируемый плазматической мембраной высших растений. Этот фермент обеспечивает синтез полисахарида каллозы (1,3- β -глюканов).

Морфогенетически важными элементами, обеспечивающими пространственной информацией новосинтезирующиеся целлюлозные микрофибриллы и контролирующими их ориентацию, являются кортикальные МТ, представляющие собой динамические полимеры, состоящие из гетеродимеров α - и β -субъединиц тубулина, которые находятся в соотношении 1:1 [172, 173]. Обнаружена также γ -изоформа тубулина, являющаяся минорным компонентом МТ и играющая определенную роль в организации ядра МТ. Разные изоформы тубулина могут дифференцированно модулировать функцию МТ.

В период элонгации контроль клеткой стабильности МТ осуществляется с помощью разных механизмов [174, 175]: 1) за счет качественных изменений экспрессии генов тубулина; 2) посредством

циклов тирозилирования/детирозилирования и ацетилирования β -тубулина; 3) через изменения во взаимодействии между МТ и ассоциированными с МТ белками (МАР); 4) фосфорилированием белков МТ; 5) посредством колебаний в уровне концентрации ионов Ca^{2+} . Установлено также, что экстенсин участвует в стабилизации кортикальных МТ.

Ассоциация МТ с плазматической мембраной является основным процессом, регулирующим сборку клеточной стенки [172, 176]. Синтез целлюлозы осуществляется целлюлозосинтетазным комплексом, образующим мембранные розетки, подвижные в плоскости мембраны; МТ ограничивают и направляют это движение, создавая каналы для целлюлозосинтетазного комплекса и, таким образом, контролируют порядок расположения целлюлозных фибрилл. В периоды клеточной элонгации и дифференциации МТ приобретают характерную поперечную ориентацию по отношению к элонгирующей оси.

В настоящее время на основании данных морфологического и биохимического анализов установлено, что клеточные стенки двудольных и однодольных растений отличаются по составу полисахаридов гемицеллюлозного матрикса, вследствие чего ауксин-регулируемые гидролитические ферменты, играющие ключевую роль в генетическом контроле роста клеток растяжением (которое доминирует у зародышей растений на раннем этапе прорастания семян — в начале темновой фазы), проявляют дифференцированную, т. е. специфическую активность по отношению к разным видам полисахаридов. В результате пластической модификации, вызываемой гидролитическими ферментами, стенка становится эластичной, что и обеспечивает возможность ее растяжения, которое происходит пассивно под действием внутриклеточного осмотического давления, создаваемого вакуолью.

В период роста клеток растяжением активируются многочисленные ферменты, участвующие в расщеплении полисахаридов первичной однослойной клеточной стенки (содержащей около 30 % целлюлозы): у класса двудольных растений — гидролитические ферменты ХЕТ (расщепляющие ксилоглюкановые цепи на фрагменты, известные как *попа*-(xg9) и *hepta*-(xg7) повторы сахаров) и экспансины (способствующие «разрыхлению» полисахаридов гемицеллюлозного матрикса, однако не проявляющие свойств гидролитических ферментов) [169, 177—181]; у класса однодольных растений

(большая часть из которых содержит менее 5 % ксилоглюканов в гемицеллюлозном матриксе первичной клеточной стенки при преобладании арабиногалактановых, глюкуроноарабиноксилановых (GAX) и полифенольных поперечных сшивок) — гидролитическими ферментами являются декстраназа (β -1,6-D-глюкан-6-глюканогидролаза), расщепляющая арабиногалактановые поперечные мостики с освобождением арабинозы и глюкозы, а также β -галактозидаза, участвующая в расщеплении β -1,4-D-галактановых полимеров с освобождением галактозы [168, 180].

Гидролитические ферменты ХЕТ, расщепляющие полисахариды (содержащие β -D-ксилозил либо β -D-галактозил-1,2- β -D-ксилозил, либо β -L-фукозил-1,2- β -D-галактозил-1,2- β -D-ксилозил цепи полимеров) первичной клеточной стенки двудольных растений в процессе ее растяжения и образования вторичной стенки, идентифицированы у многих растений [169, 181]. По данным исследований [181—184], возрастание экспрессии генов ХЕТ наблюдается под воздействием фитогормонов ауксинов, гиббереллинов и брассиностероидов в быстрорастущих и элонгирующих тканях листьев и стеблей растений. В то же время обнаружено, что активность ХЕТ не всегда коррелирует только с ростовыми процессами.

Подтверждением этого факта служат данные о высокой активности ХЕТ в вегетативных тканях и в созревающих плодах [185, 186]. Методом генетического и молекулярно-биологического анализов выяснено, что в период клеточной дифференцировки и на стадии созревания дифференцированно экспрессируются разные гены ХЕТ. Например, у томата (*Lycopersicon esculentum*) к настоящему времени охарактеризованы кДНК клоны с высокой степенью гомологии к *tXET-B1* и *tXET-B2* генам, экспрессирующимся в зрелых плодах [187], к регулируемому брассиностероидами *Le-Br1* гену [188], к *LeEXT1* гену, уровень экспрессии которого под воздействием ИУК достигает максимума в эпидермальных тканях апикального элонгирующего участка гипокотили этиолированных проростков [189], а также к *LeXET2* гену, экспрессия которого (ингибируемая ауксином и стимулируемая гиббереллином) обычно наблюдается в средних и базальных зонах гипокотили (где элонгация прекращена), в корнях, стеблях, листьях, а также на поздних стадиях созревания плодов.

Исследования влияния ауксина на экспрессию

ХЕТ генов показали, что одновременное возрастание аккумуляции ауксин-индуцируемой *LeEXT1* мРНК и снижение накопления *LeXET2* мРНК происходят и при обработке в течение 12 ч синтетическим ауксином 2,4-Д этиолированных гипокотилей томата [181]. В других экспериментах в ходе исследования ауксин-индуцированной экспрессии *EGL1* гена (гомологичного *LeEXT1* гену томата) в эпикотиле гороха также установлено, что количество мРНК гена *EGL1* возрастает при обработке синтетическим ауксином 2,4-Д в течение 5 ч [190].

Полученные данные о диаметрально противоположных эффектах регулирующего действия ауксина на экспрессию двух генов (*LeEXT1* и *LeXET2*) томата свидетельствуют о том, что эти гены выполняют разные функции внутри клеточной стенки: ауксин-индуцируемый фермент, кодируемый *LeEXT1* геном, катализирует расщепление ксилоглюкановых полимеров и олигомеров в период стимулированного внутриклеточным осмотическим давлением растяжения первичной клеточной стенки, перенося и встраивая редуцированные фрагменты ксилоглюкановых цепей между новосинтезированными целлюлозными микрофибриллами вторичной стенки, тогда как гиббереллин-индуцируемый фермент, кодируемый *LeXET2* геном, не проявляет гидролитических свойств, а, как выяснено, катализирует эндотрансгликозилирование между ксилоглюкановыми полимерами с м. м. выше 10 кДа, способствуя таким образом интеграции новых ксилоглюкановых полисахаридов в уже сформированную клеточную стенку для ее утолщения и поддержания целостности [181].

Эксперименты по изучению влияния ауксина на активность фермента декстраназы, гидролизующей клеточные стенки однодольных растений, проведены в 1981 г. американским ученым Хейном, показавшим, что декапитирование апикальной зоны coleoptилей овса (*Avena sativa*) приводит к приостановке роста клеток растяжением вследствие прекращения поступления ауксина из удаленной апикальной зоны [168]. На основе этих наблюдений, а также при определении активности декстраназы в декапитированных и недекапитированных coleoptилях овса с помощью метода тонкослойной хроматографии доктор Хейн сделал вывод о повышении активности этого фермента (под воздействием ауксина, синтезирующегося и поступающего с верхней апикальной зоны растяжения), расщепляющего полисахариды гемицеллюлозного матрикса

первично дифференцированной клеточной стенки в недекапитированных колеоптилях овса и в то же время об ингибировании активности этого фермента в декапитированных колеоптилях (из-за прекращения поступления ауксина из апикальной зоны эпикотилия).

В последние годы получены подробные сведения о многочисленной семье ферментов эндоглюканаз (EGs), участвующих в расщеплении полисахаридных компонентов первичной клеточной стенки в процессе ее растяжения [191]. Согласно этим данным, EGs большинства растений имеют сигнальный пептид, определяющий их локализацию в эндоплазматическом ретикулуме. Секретируемые эндоплазматическим ретикулом эндоглюканазы принадлежат к семейству девяти гликозидгидролаз, проявляющих инвертный гидролизующий механизм действия. Инвертирующие гликозидгидролазы опосредуют изменение анометрической конфигурации, способствуя преобразованию продукта с противоположной стереохимией в субстрат.

Ауксин стимулирует их секрецию в периплазму, где они проявляют гидролитическую активность, расщепляя ксилоглюкановые и олигосахаридные компоненты первичных клеточных стенок. Например, у некоторых представителей однодольных растений, таких как кукуруза (*Zea mays*) и ячмень (*Hordeum vulgare*), в гемицеллюлозном матриксе клеточных стенок, кроме арабиногалактановых, GAX и полифенольных компонентов, содержатся также и другие биополимеры, имеющие смешанные связи, — 1,3:1,4- β -D-глюканы [180]. Установлено, что эти полисахариды первоначально отсутствуют в меристематических клетках, однако их быстрая аккумуляция (в результате которой их масса достигает около 20 % от сухой массы клеточных стенок) наблюдается во время ауксин-стимулируемой элонгации колеоптиля, по завершении которой количество глюканов снижается, а содержание этерифицированных гидроксикоричных кислот и лигнин-подобных ароматических соединений возрастает [192].

Выяснено, что в расщеплении 1,3:1,4- β -D-глюканов в процессе растяжения клеточных стенок у кукурузы и ячменя участвуют гидролитические ферменты эндо-1,3:1,4- β -D- и экзо- β -D-глюканазы [180]. Подтверждением этой информации являются также данные о том, что в стимулированных ауксином элонгирующих клетках колеоптилей ячменя происходит деградация 1,3:1,4- β -D-глюканов

в гемицеллюлозных полисахаридах [190]. С помощью Нозерн-блот анализа изучены эффекты ИУК на экспрессию генов, кодирующих эндо-1,3:1,4- β -D-глюканазу (ген *EI*) и экзо- β -D-глюканазу (ген *EXOII*), катализирующих гидролиз полисахаридов клеточной стенки ячменя. Обнаружено, что уровень экспрессии *EXOII* гена в обработанных ауксином сегментах по сравнению с контрольными остается постоянным в течение 8 ч. Эти данные свидетельствуют о том, что *EXOII* ген конститутивно экспрессируется и не регулируется ИУК. Возрастание экспрессии *EI* гена наблюдается в обработанных ИУК (10^{-5} М) сегментах на 4-й ч (количество *EI* транскриптов возрастает в 5 раз), более высокий уровень экспрессии *EI* гена отмечен на 8-й ч обработки; в то же время в контрольных сегментах экспрессия *EI* гена увеличивается лишь на 8-й ч. Величина м. м. гемицеллюлозных полисахаридов после 2-ч обработки ИУК сдвигается в область значений для низкомолекулярных соединений. Эти факты указывают на дифференцированную регуляцию ИУК экспрессии генов эндо-1,3:1,4- β -D- и экзо- β -D-глюканаз.

Следует отметить, что в последние годы у многих бактерий и грибов также идентифицированы и выделены 1,4- β -эндоглюканазы, обладающие специфичностью действия по отношению к клеточным стенкам растений. Например, в ходе экспериментов, посвященных изучению энзиматической активности 1,4- β -эндоглюканазы грибов (кодируемой геном *Cell2A*) из *Trichoderma reesei* с м. м. 23 кДа, принадлежащей к семье 12 гликозидгидролаз, в инактивированных под действием высоких температур, а затем обработанных ауксином клеточных стенках гипокотилей огурца (*Cucumis sativus* cv Burplee Pickler), установлено, что усиление гидролитической активности данного фермента наблюдается по отношению к ксилоглюкановым и 1,3:1,4- β -глюкановым полисахаридам клеточных стенок. В то же время данный фермент не проявляет подобной активности относительно ксилановых, арабиноксилановых, галактоманнановых и галактановых полисахаридов [193]. Результаты этой работы и других исследований [194], посвященных выяснению роли гидролитического фермента β -глюканазы в молекулярных механизмах защитных реакций растений на воздействие патогенов в растениях табака, трансформированных сконструированными генно-инженерными методами бинарными векторными плазмидами, содержащими комбина-

цию из трех последовательностей (последовательности растительного промотора, последовательности, кодирующей лидерный или сигнальный пептид экстенсина моркови, и последовательности, кодирующей термостабильную бактериальную (*Clostridium thermocellum*) β -глюканазу (лихеназу) с высоким уровнем удельной активности), несомненно, представляют значительный теоретический и практический интерес для создания сверхустойчивых к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды и к патогенам видов растений.

Открытие семьи белков α - и β -экспансинов (относящихся к классу HRGPs белков), проявляющих специфическую по отношению к клеточной стенке мягкую «разрыхляющую» активность при pH~4,5, поможет создать новые подходы к решению проблемы гормонально индуцированного растяжения клеточных стенок. Экспансины представляют собой класс полипептидов, участвующих в период элонгации в терминальной дифференциации клеток и регулирующих изменения клеточной стенки. Например, показано, что в культурах клеток *in vitro* при изучении синхронно дифференцирующихся элементов трахеи из циннии (*Zinnia elegans*) наблюдалось усиление экспрессии трех видов мРНК, кодирующих ZeExp1, ZeExp2, ZeExp3 экспансины [195]. Обнаружено, что у этого растения все указанные мРНК синтезируются в основном в клетках, прилегающих к прото- и метаксилеме сосудов, и в клетках, расположенных в радиальном направлении по отношению к камбию; причем повышение уровней мРНК ZeExp1 и ZeExp3 экспансинов наблюдается в апикальных элонгирующих зонах роста, тогда как уровень ZeExp2 мРНК возрастает в базальных зонах роста.

Выяснены также особенности механизма действия экспансинов, индуцирующих в течение короткого временного периода (< 1 мин, возможно, вследствие ограниченной диффузии) растяжение клеточных стенок без гидролиза их мажорных полисахаридов (т. е. вызывающих, в отличие от гидролитических ферментов, плавное смещение полисахаридов матрикса клеточной стенки без значительных изменений ее структуры) [196].

Как установлено, существует функциональное взаимодействие между экспансинами и некоторыми гидролазами, делающими клеточные стенки более чувствительными к воздействию экспансинов (причем обнаружено наличие специфичности воздействия экспансинов на целлюлозоксилотриглюкановые

компоненты и в то же время ее отсутствие в случае целлюлозо-глюкоманнановых и гомогалактуронановых полимеров клеточной стенки) [197]. Получены также данные, свидетельствующие о взаимосвязи между уровнем гормонов ауксинов и активностью экспансинов. Например, усиление экспрессии *LeExp2* гена экспансина наблюдалось при обработке синтетическим ауксином 2,4-Д в течение 12 ч этиолированных гипокотилей растущих плодов томата (*Lycopersicon esculentum* cv Moneymaker) [190].

Таким образом, контроль роста клеток растяжением у растений осуществляется двумя координированными механизмами перестройки клеточной стенки: один из них заключается в диссоциации полимеров стенки, а второй — в плавном изменении ее структуры без гидролиза полисахаридов матрикса. В создании архитектуры двухслойной вторично дифференцированной клеточной стенки (содержащей до 60 % целлюлозы относительно общей массы стенок) как у двудольных, так и однодольных растений ключевая роль принадлежит ферментам целлюлозосинтетазе и каллозосинтетазе (относящихся к классу интегральных мембранных эндо-1,4- β -эндоглюканаз, входящих в состав целлюлозосинтетазного комплекса, осуществляющего биосинтез целлюлозных компонентов плазматических мембран вторичных клеточных стенок и контролирующих расположение новосинтезированных аморфных целлюлозных цепей, а также их длину посредством регулирования терминации их биосинтеза) и ряду ферментов, участвующих в гликозилировании и фукозилировании ксилоглюкановых, арабиногалактановых и GAX полисахаридов, плотно переплетающих целлюлозные микрофибриллы для придания прочности стенке.

В настоящее время клонированы и сравнительно изучены последовательности генов целлюлозосинтетазы и каллозосинтетазы (*CesA1* и *CesA2*), экспрессирующихся в период формирования вторичной клеточной стенки волокон хлопка, а также генов бактериальной целлюлозосинтетазы и каллозосинтетазы [198]. Тканеспецифическая экспрессия гена целлюлозосинтетазы исследована у растений *Arabidopsis*, трансформированных генетической конструкцией, содержащей промоторные последовательности гена *CesA4* целлюлозосинтетазы волокон хлопка, слитых с *GUS* репортерным геном: у молодых проростков *GUS* экспрессия наблюдается в корнях, а на более поздних стадиях

развития она отмечается и в пестиках цветков, в верхушках и основаниях стручков, в сосудистых тканях листьев; увеличение активности *CesA4* промотора выявлено в трихомах (только в базальной части) и в устьичных клетках на поверхности листьев.

Новые сведения о биосинтезе целлюлозы и идентификации генов, кодирующих компоненты целлюлозосинтетазного ферментативного комплекса, получены при изучении *radialswelling* (*rsw1* и *rsw2*) и *korrigan* мутантов *Arabidopsis* с нарушенным биосинтезом целлюлозы [199]. Методом генетического анализа у *Arabidopsis* идентифицировано, по меньшей мере, 17 генов, кодирующих секретрируемые эндоплазматическим ретикуломом гидролитические EGs, и лишь три гена: *KOR*, *KOR2* и *KOR3*, кодирующих локализованные в мембране EGs, относящиеся к классу целлюлозосинтеаз.

Установлено, что мутация *korrigan* одной из ассоциированных с мембраной EGs, кодируемой *KOR* геном, приводит к образованию aberrантной клеточной перегородки (что свидетельствует о ключевой роли *KOR* в цитокинезе клетки), недостроенной клеточной стенки (вследствие низкого уровня целлюлозы) и к многоядерности клеток, в результате чего возникают различные дефекты в морфологии проростков *Arabidopsis* [200]. Выяснено, что *KOR* ген экспрессируется повсеместно в мембранах разных тканей растений, в то время как *KOR2* и *KOR3* гены дифференцированно экспрессируются в трихомах развивающихся листьев. Кроме того, экспрессия *KOR2* гена наблюдается в волосках развивающихся корней в зоне дифференциации, в базальных участках листьев и флоральных органов, тогда как *KOR3* ген экспрессируется также в сосудистых пучках мезофильной ткани листьев [201].

Установлено, что ауксин не повышает значительно уровень экспрессии *KOR* гена, кодирующего белок с м. м. 72 кДа, и гомологичных ему генов — *Cel3* гена томата (*L. esculentum*), кодирующего белок с м. м. 68,5 кДа, и *Cell6* гена пастушьей сумки (*Brassica napus*), кодирующего белок 69 кДа, что является доказательством функционального отличия локализованных в мембране EGs от секретрируемых эндоплазматическим ретикуломом ауксин-регулируемых гидролитических EGs [202].

Исследования *rsw2* мутантов *Arabidopsis*, аллельных *korrigan* мутантам, показали, что *rsw2*

мутанты являются температурочувствительными, фенотипически подобными мутантам по биосинтезу целлюлозы *rsw1* растениям и продуцируют менее 50 % целлюлозы в корнях по сравнению с дикими типами растений при определенной температуре [203]. Более того, у *rsw2* мутантов обнаружены небольшие отклонения в продукции полисахаридов гемицеллюлозного матрикса клеточной стенки. У *korrigan* мутантов наблюдается увеличение клеток в диаметре, образуются отверстия в клеточных стенках и происходит окончательное разрушение клеток вследствие низких уровней целлюлозы. Подобные явления обнаружены и у *rsw2* мутантов, что свидетельствует о ключевой роли *Cell6* и *KOR* генов в биосинтезе целлюлозы в период растяжения клеток.

На протяжении нескольких последних лет с помощью функционального геномного анализа идентифицированы и охарактеризованы гены ферментов, участвующих в биосинтезе ксилоглюкановых, арабиногалактановых и GAX полисахаридов гемицеллюлозного матрикса клеточной стенки, прочно переплетающих целлюлозные микрофибриллы. К ним относятся члены семейства генов ферментов, вовлеченных в биосинтез ксилоглюканов — ксилоглюкановые ксилозилтрансферазы (например, *AtXT1* ген и группа гомологичных ему генов, названных *AtGT2-7* у *Arabidopsis*) [204], семейство *CSL* генов (*cellulose synthase-like*), кодирующих ксилоглюканглюкансинтеазу, участвующую в биосинтезе компонентов гемицеллюлозного матрикса, соединяющих между собой ксилоглюкановые полисахариды (в частности, в семенах гуара идентифицирован гомолог *CSLA* гена *Arabidopsis*, локализованный в мембранах комплекса Гольджи и кодирующий β -1,4-маннансинтеазу) [205], гены фермента ксилансинтеазы (в частности, *XSI* ген проростков риса) [206], ответственной за биосинтез GAX полисахаридов, состоящих из β -1,4-ксиланов, связанных с β -1,3-арабинозой и β -1,2-глюкуроновой кислотой, а также гены фермента глюкансинтеазы, катализирующей биосинтез β -1,4-глюканов, имеющих высокую м. м. (например, *GS1* ген, идентифицированный в мезокотиле кукурузы) [206].

Методом PCR-анализа у различных растений идентифицированы 37 *AtFUT* генов ксилоглюкан-специфических β -1,6- и β -1,2-фукозилтрансфераз, кодируемых, например, *AtFUT3—AtFUT5* генами *Arabidopsis*, и гликозилтрансфераз, кодируемых, в

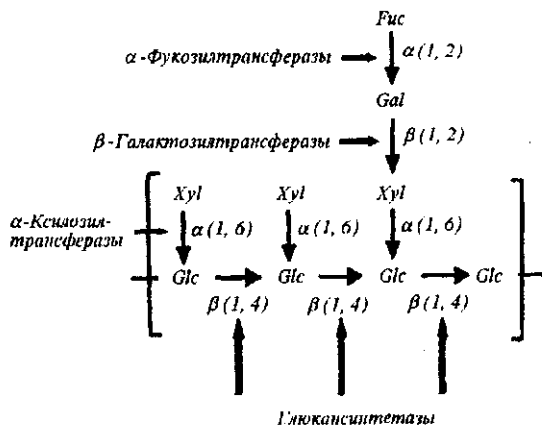


Рис. 3. Схематическое изображение структуры типичных ксилоглюкановых полисахаридов, обнаруженных в клеточной стенке многих двудольных растений, а также ферментов их биосинтеза [206]: глюкансинтетаза, участвующих в синтезе глюканов (*Glc*), α -фукозилтрансфераз, β -галактозилтрансфераз и α -ксилозилтрансфераз, присоединяющих к новосинтезированным глюканам молекулы олигосахаридов: фукозы (*Fuc*), галактозы (*Gal*) и ксилозы (*Xyl*) соответственно

частности, *AtFUT1* геном *Arabidopsis* [207, 208] и *PsFUT1* геном гороха (*Pisum sativum*) [209], осуществляющих фукозилирование и гликозилирование ксилоглюкановых, рамногалактуронановых и арабиногалактановых полисахаридов, а также галактоманнановых галактозилтрансфераз, изолированных, в частности, у пажитника сеного (*Trigonella foenum-graecum*) [210]) и ксилоглюкановых галактозилтрансфераз, кодируемых, например, *MUR3* геном *Arabidopsis* [211], участвующих в галактозилировании соответственно галактоманнановых и ксилоглюкановых компонентов клеточной стенки (рис. 3).

Изучение тканеспецифической экспрессии *AtFUT* генов *Arabidopsis* показало, что высокие уровни экспрессии *AtFUT4* гена наблюдаются в зрелых листьях и корнях, а экспрессия *AtFUT5* гена преобладает, в основном, в корнях диких типов растений. Исследования особенностей биосинтеза фукозы у мутантных *atfut1* растений свидетельствуют об отсутствии фукозы в ксилоглюкановых компонентах, выделенных из корней и листьев этих растений. В то же время гиперэкспрессия *AtFUT1* гена в трансгенных растениях вызывает повышенную фукозилтрансферазную активность по сравнению с дикими видами растений, однако ксилоглюкановые олигосахариды трансгенных и диких типов растений содержат сравнимые количества фукозы, что объясняется ограниченным пулом подходящих акцепторных субстратов [206].

Как установлено, все вышеперечисленные ферменты биосинтеза полисахаридов гемцеллюлозного матрикса клеточной стенки локализируются в аппарате Гольджи и являются мембранными белками, содержащими короткий аминокотерминальный домен, обращенный к цитоплазме, единичный трансмембранный домен, отделенный от глобулярной каталитической части белков последовательностями различной длины, а также гидрофильный карбокситерминальный домен, содержащий активный сайт, расположенный в полости аппарата Гольджи [212]. В период роста клеток растяжением эти ферменты транспортируются в клеточную стенку и участвуют в ее модификации. Показано также, что экспрессия генов этих ферментов ингибируется светом (как выяснено, этот процесс опосредуется фитохромом через гормон ауксин, уровень которого снижается под воздействием света). При этом выявлено, в частности, что экзогенная обработка ИУК мезокотилей кукурузы предотвращает светоиндуцируемое снижение уровня транскрипции *GS1* гена [213, 214].

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что наиболее значительную роль в организации прочной, подобной металло-бетонной конструкции вторичной клеточной стенки, выполняет мажорный, присутствующий у всех высших растений белок экстенсин (м. м. 30 кДа), кодируемый *HRGP* геном [163, 215]. Экстенсин — высокоположительно заряженный белок (его изоэлектрическая точка — $pI = 9$). Его количество составляет до 10 % от всех белков стенки. Экспрессия гена экстенсина возрастает в период стимулированного ауксином растяжения клеточной стенки, а также под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды и патогенов (предполагается, что экстенсин связывает отрицательно заряженные патогены и предотвращает их поступление внутрь клеток). Механическую прочность клеточной стенки экстенсин усиливает за счет образования ионных и ковалентных связей с другими полимерами, в частности, с пектинами. Установлено, что катализатором защитной реакции клеток в ответ на действие элиситоров или оксидативный стресс являются ферменты пероксидазы, стимулирующие быстрое поступление (без синтеза *de novo*) экстенсина в клеточную стенку и его взаимодействие с полисахаридами, повышая тем самым ее прочность [216, 217]. Такая быстрая реакция является первичным защитным ответом клетки, в то время как вторичная ответная реакция

состоит в усилении транскрипции экстенсина и других защитных соединений (дефензинов, фитоалексинов и фенольных соединений) [163, 218]. Например, при изучении механизма защитной реакции каллусных клеток европейских культур винограда (*Vitis vinifera* L. cv Touriga), зараженных штаммами *Plasmopara viticola* и *Uncinula necator*, вызывающими заболевание милдью или ложно-мучнистую росу, отмечена быстрая аккумуляция GvP1 гликопротеина экстенсина с м. м. 89,9 кДа в ответ на элиситорное действие экстенсинпероксидазы (EP) с м. м. 40 кДа [216].

Получены данные о регулирующем влиянии ауксина на экспрессию пероксидаз. Эксперименты, в ходе которых изучали изоферментный спектр пероксидаз при индуцируемом ИУК ризогенезе этиолированных черенков фасоли, показали, что 10-кратное увеличение образования придаточных корней в этиолированных черенках фасоли происходит в результате 4-ч обработки их раствором ИУК ($8 \cdot 10^{-4}$ М) [219]. Начало дифференцировки корневых примордиев (72 ч после обработки ИУК) характеризовалось трехкратным увеличением общей активности пероксидаз в зонах ризогенеза. Анализ хроматографического разделения суммарной фракции пероксидаз показал, что под действием ИУК количество анионных пероксидаз в индуцированных к ризогенезу черенках увеличивалось с 4 до 6. Наиболее существенные изменения под влиянием ИУК происходили в изоферментном составе анионных пероксидаз. Для них характерно появление двух новых изоформ (R_f 0,23 и 0,76), которые могут служить маркерами ауксин-зависимого ризогенеза. Результаты данных экспериментов показали также, что все идентифицированные пероксидазы обладали способностью декарбоксилировать I-[14 C]ИУК *in vitro* при добавлении в реакционную среду кофакторов ферментативного окисления ИУК (ионов Mn^{2+} и *n*-кумаровой кислоты), что свидетельствует о прямом участии пероксидаз в регуляции метаболизма ИУК. Как установлено в ходе других исследований [220], посвященных кинетике изменения уровня ИУК через 8 и 24 ч после ее введения в черенок фасоли, часть ИУК может окисляться под влиянием пероксидаз, а другая часть — связываться со специфическими рецепторами и таким образом активировать процесс деления и растяжения клеток. Выяснено также, что роль своеобразных протекторов окисления ИУК у растений выполняют кверцетин и другие диоксифе-

нолы, способные окисляться под действием пероксидазы раньше, чем ИУК, предотвращая тем самым ее окисление. Не менее важной функцией полифенольных соединений, является образование лигниновых полимеров, придающих особую прочность вторичным клеточным стенкам по окончании их растяжения. Таким образом, вышеизложенные результаты исследований, несомненно, свидетельствуют о существовании ауксин-регулируемой комплексной эндогенной программы дифференциации и специализации клеток растений.

Закключение. Значительные успехи в изучении механизмов регуляторного действия ауксина на ключевые этапы дифференцировки клеток — процессы деления и растяжения клеток дают основания для дальнейших фундаментальных исследований его роли в регуляции экспрессии генов на всех стадиях онтогенеза растений, которые должны послужить прогрессу в создании новых генно-инженерных биотехнологий. В перспективе такие разработки могут быть использованы для коррекции ключевых этапов морфогенеза растений, создания более продуктивных и устойчивых к неблагоприятным факторам окружающей среды сортов растений.

V. A. Tsygankova, L. A. Galkina, L. I. Musatenko, K. M. Sytnik

Genetic and epigenetic control of plant growth and development. Genes of auxin biosynthesis and auxin-regulated genes controlling plant cell division and extension

Summary

In the review a spectrum of enzymes' genes determining different ways of indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis identified at Arabidopsis is given: the TRP1 gene of antranilat phosphoribosyltransferase 1, TRP3 gene of tryptophane synthase and family NIT genes of nitrilase, catalysing tryptophane-independent way of IAA biosynthesis from precursor indole-3-acetonitrile; CYP79B and CYP83B1 genes (members of family cytochromes P450 genes), controlling IAA biosynthesis from tryptophane; the enzymes' genes, catalysing of the IAA biosynthesis from indole-3-butyric acid: the PXA1 and PEX14 genes of peroxisomal membrane proteins — the ABC-ATPas family members, the PEX5 and PEX7 genes of cytoplasmic protein receptors, genes of peroxisomal matrix proteins-enzymes (acx3 gene of acyl-CoA oxidase, aim1 gene of multifunctional protein and ped1 gene of thiolase); enzymes' genes catalysing synthesis of IAA-conjugates and their hydrolysis — the genes of IAGLc synthase, IAINos transferase, serin carboxypeptidase-like IAINos acyltransferase and IAR3 gene of IAA-Ala hydrolase. The nomenclature and classification of the auxin-regulated genes responsible for the cell division are presented: cyclin genes and activated by them cyclin-dependent protein kinases, as well as genes of numerous family of mitogen-activated protein kinases. The auxin-induced genes of enzymes participating in biosynthesis and hydrolysis of polysaccharides components of plant cell walls in the period of their growth by extension are considered in detail: the EI gene of endo-1,3:1,4-β-D-glucanase and EXO11 gene of exo-β-D-glucanase, numerous families XET genes of xyloglucan endotrans-

glycosylases, *ZeEXP* genes of expansins, *AtFUT* genes of xyloglucan-specific β -1,6- and β -1,2-fucosyltransferases and glycosyltransferases, *CSL* genes of xyloglucan glucan synthases and β -1,4-mannan synthases, *MUR* genes xyloglucan galactosyltransferases as well as *AtXT1* gene and homologous *AtGT2-7* genes xyloglucan xylosyltransferases at *Arabidopsis*; the *XSI* gene of xylansynthase at rice, and also *GSI* gene of glucansynthase at corn. A possible role of cell wall protein — extensin (encoded by the auxin-regulated *HRGP* gene) in the plants defence from pathogens and unfavourable factors of external environment is discussed.

Key words: genes of indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis; auxin-regulated genes responsible for plant cell division and extension.

В. А. Циганкова, Л. А. Галкіна, Л. І. Мусатенко, К. М. Ситник

Генетичний і епігенетичний контроль росту і розвитку рослин. Гени біосинтезу ауксину і гени, що регулюються ауксином та контролюють поділ і розтягнення клітин рослин

Резюме

В огляді розглянуто спектр генів, які детермінують різні шляхи біосинтезу індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК), ідентифікованих у *Arabidopsis*: *TRP1* гена антранілатфосфорибозилтрансферази 1, *TRP3* гена триптофансинтази і родини *NIT* генів нітрилаз, що каталізують триптофан-незалежний шлях біосинтезу ІОК із попередника індол-3-ацетонітрилу; *CYP79B* та *CYP83B1* генів (членів родини генів цитохромів P450), які контролюють біосинтез ІОК із триптофану; генів ферментів, що каталізують біосинтез ІОК з індоліл-3-масляної кислоти: *PXA1* і *PEX14* генів пероксисомних мембранних білків — членів родини *ABC-АТРаз*, *PEX5* і *PEX7* генів цитоплазматичних білків-рецепторів, генів пероксисомних матриксних білків-ферментів (*асх3* гена ацил-СоА оксидази, *aim1* гена багатofункціонального білка і *ped1* гена тіолази); генів ферментів, що каталізують утворення кон'югатів ІОК та їхній гідроліз: генів *IAGLc* синтази, *IAInos* трансферази, серинкарбоксіпептидаз-подібної *IAInos* ацилтрансферази і *IAR3* гена ІОК-Ала гідролази. Представлено номенклатуру і класифікацію генів, які регулюються ауксином і відповідають за клітинний поділ: генів циклінів та циклін-залежних протеїнкіназ, а також генів численної родини мітоген-активованих протеїнкіназ. Детально розглянуто гени ферментів, що регулюються ауксином і беруть участь у біосинтезі і гідролізі полісахаридних компонентів стінок клітин рослин у період їхнього росту розтягненням: *E1* ген ендо-1,3:1,4- β -D-глюканази і *EXOII* ген екзо- β -D-глюканази, численні родини *XET* генів ксилоглюканендотрансглікозилаз, *ZeEXP* генів експанснів, *AtFUT* генів ксилоглюкан-специфічних β -1,6- і β -1,2-фукозилтрансфераз і глікозилтрансфераз, *CSL* генів ксилоглюканглюкансинтаз та β -1,4-манансинтаз, *MUR* генів ксилоглюканових галактозилтрансфераз, а також *AtXT1* ген і гомологічні *AtGT2-7* гени ксилоглюканових ксилозилтрансфераз у *Arabidopsis*; *XSI* ген ксилансинтази у рису та *GSI* ген глюкансинтази у кукурудзи. Обговорюється роль структурного білка клітинної стінки — екстенсину (що кодується *HRGP* геном, який регулюється ауксином) у захисті рослин від патогенів і несприятливих факторів довкілля.

Ключові слова: гени біосинтезу індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК); гени, які регулюються ауксином та відповідають за поділ і розтягнення клітин рослин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Leopold A. C., Nooden L. D. Hormonal regulatory system in plants // *Horm. Regul. Develop.*—1984.—2.—P. 4—22.

2. Snow R. The correlative inhibition of the growth of axillary buds // *Ann. Bot.*—1925.—39.—P. 841—859.
3. Wareing P. F. Endogenous inhibitors in seed germination and dormancy // *Encyclopedia of plant physiology* / Ed. W. Ruhland.—Berlin; Göttingen; Heidelberg: Springer, 1965.—Vol. 15, pt 2.—P. 909—924.
4. Darwin C., Darwin F. The power of movement in plants / Ed. J. Murray.—London, 1880.—880 p.
5. Brown H. T., Morris G. H. Researches of the germination of some of the *Gramineae* // *J. Chem. Soc.*—1890.—57.—P. 458—528.
6. Loeb J. Chemical basis of correlation // *Bot. Gaz.*—1918.—65.—P. 150—174.
7. Molisch H. Die Lebensdauer der Pflanze.—Jena: Fischer, 1928 (Transl. by Fulling E. H.—Lancaster: Science press, 1938).
8. Ситник К. М. Николай Григорьевич Холодный (К столетию со дня рождения) // *Укр. бот. журн.*—1982.—39, № 3.—С. 1—3.
9. Меркус А. И. Тропизмы растений в свете теории Холодного—Вента // *Укр. бот. журн.*—1982.—39, № 3.—С. 16—31.
10. Went F., Thimann K. V. *Phytohormones.*—New York: MacMillan, 1937.—294 p.
11. Thimann K. V. Plant growth // *Fundamental aspects of normal and malignant growth* / Ed. W. W. Nowinski.—Amsterdam: Elsevier, 1960.—P. 748—822.
12. Pilet P. E. Action des gibberellins sur l'activite auxines-oxydasique de tissues cultives *in vitro* // *C. r. Acad. Sci. Paris.*—1957.—245.—P. 1327—1328.
13. *The plant growth regulators in agriculture and horticulture. Role and commercial uses* / Ed. S. B. Amarjit.—New York: Haworth press, 2000.—255 p.
14. Arteca R. *Plant growth substances: principles and applications.*—New York: Chapman and Hall, 1996.—255 p.
15. Creelman R. A., Mullet J. E. Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression // *Plant Cell.*—1997.—9.—P. 1211—1223.
16. Gross D., Parthier B. Novel natural substances acting in plant growth regulation // *J. Plant Growth Regul.*—1994.—13.—P. 93—114.
17. Луценко Э. К., Марушко Е. А., Леонова Т. Г. Действие фузикококцина на ранних этапах прорастания сорго при засолении // Тез. докл. IV Междунар. конф. «Регуляторы роста и развития растений».—М.: Изд-во Мос. гос. аграр. ун-та, 1997.—С. 105.
18. Чайлахян М. Х., Бутенко П. Г., Кулаева О. Н., Кефели В. И., Аксенова Н. П. Терминология роста и развития высших растений.—М.: Наука, 1982.—96 с.
19. McCourt P. Genetic analysis of hormone signalling // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*—1999.—50.—P. 219—243.
20. Becraft P. W., Suk-Hoon Kang, Sang-Gon Suh. The maize CRINKLY4 receptor kinase controls a cell-autonomous differentiation response // *Plant Physiol.*—2001.—127, N 2.—P. 486—496.
21. Vivanco J. M., Flores H. E. Control of root formation by plant growth regulation // *The plant growth regulators in agriculture and horticulture. Role and commercial uses* / Ed. S. B. Amarjit.—New York: Haworth press, 2000.—P. 1—25.
22. Shneider E. A., Wightman F. Auxins // *Phytohormones and related compounds — a comprehensive treatise.*—Amsterdam: Elsevier, 1978.—P. 29—105.

23. Kefeli V. Natural growth inhibitors and phytohormones.—Haague: Junh Publ., 1978.—294 p.
24. Dorffling K. Das Hormonsystem der pflanzen.—Stuttgart; New York: Georg Thieme, 1982.—304 p.
25. Kende H., Zeevaart J. A. D. The five «classical» plant hormones // *Plant Cell*.—1997.—9.—P. 1197—1210.
26. Jakubowska A., Kowalczyk S. The auxin conjugate 1-O-indole-3-acetyl- β -D-glucose is synthesized in immature legume seeds by IAGlc synthase and may be used for modification of some high molecular weight compounds // *J. Exp. Bot.*—2004.—55, N 398.—P. 791—801.
27. Hedden F., Phillips A. Manipulation of hormone biosynthetic genes in transgenic plants // *Curr. Opin. Biotechnol.*—2000.—11.—P. 130—137.
28. Piccadenti N., Sestili S., Pandolfini T., Cirillo C., Rotino G. L., Spena A. Genetic engineering of parthenocarpic fruit development in tomato // *Mol. Breeding*.—1999.—5.—P. 463—470.
29. Romano C., Hein M., Klee H. Inactivation of auxin in tobacco transformed with the indoleacetic acid-lysine synthetase gene of *Pseudomonas savstonoi* // *Genes and Develop.*—1991.—5.—P. 438—446.
30. Bartel B. Auxin biosynthesis // *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.*—1997.—48.—P. 51—66.
31. Normanly J., Slovin J. P., Cohen J. D. Rethinking auxin biosynthesis and metabolism // *Plant Physiol.*—1995.—107.—P. 323—329.
32. Muller A., Weiler E. W. Indolic constituents and indole-3-acetic acid biosynthesis in the wild-type and a tryptophan auxotroph mutant of *Arabidopsis thaliana* // *Planta*.—2000.—211.—P. 855—863.
33. Rekoslavskaya N. I., Bandurski R. S. Indole as a precursor of indole-3-acetic acid in *Zea mays* // *Phytochemistry*.—1994.—35.—P. 905—909.
34. Dolan L. Pointing roots in the right direction: the role of auxin transport in response to gravity // *Genes and Develop.*—1998.—12, N 14.—P. 2091—2095.
35. Bartel B., Fink G. R. Differential regulation of auxin-producing nitrilase gene family in *Arabidopsis thaliana* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1994.—91.—P. 6649—6653.
36. Schmidt R. C., Muller A., Hain R., Bartling D., Weiler E. W. Transgenic tobacco plants expressing the *Arabidopsis thaliana* nitrilase II enzyme // *Plant J.*—1996.—9.—P. 683—691.
37. Grsis S., Sauerteig S., Neuhaus K., Albrecht M., Rossiter J., Muller L. J. Physiological analysis of transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing one nitrilase isoform in sense or antisense direction // *Plant Physiol.*—1998.—153.—P. 446—456.
38. Bak S., Feyereisen R. The involvement of two P450 enzymes, CYP83B1 and CYP83A1, in auxin homeostasis and glucosinolate biosynthesis // *Plant Physiol.*—2001.—127.—P. 108—118.
39. Bak S., Tax F. E., Feldmann K. A., Galbraith D. A., Feyereisen R. CYP83B1, a cytochrome P450 at the metabolic CYP83B1, a cytochrome P450 at the metabolic branchpoint in auxin and indole glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell*.—2001.—13.—P. 101—111.
40. Delarue M., Prinsen E., Onckelen H. V., Caboche M., Bellini C. sur2 mutations of *Arabidopsis thaliana* define a new locus involved in the control of auxin homeostasis // *Plant J.*—1998.—14.—P. 603—611.
41. Collett C. E., Harber N. P., Leyser O. Hormonal interactions in the control of *Arabidopsis* hypocotyl elongation // *Plant Physiol.*—2000.—124.—P. 553—561.
42. Mizutani M., Ward E., Ohta D. Cytochrome P450 gene superfamily in *Arabidopsis thaliana*: isolation of cDNAs, differential expression, and RFLP mapping of multiple cytochromes P450 // *Plant Mol. Biol.*—1998.—37.—P. 39—52.
43. Reymond P., Weber H., Damond M., Farmer E. E. Differential gene expression in responds to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis* // *Plant Cell*.—2000.—12.—P. 707—719.
44. Ulmasov T., Hagen G., Guilfoyle T. J. Dimerization and DNA binding of auxin response factors // *Plant J.*—1999.—19.—P. 309—319.
45. Hu J. Regulation of peroxisome biogenesis and function // MSU-DOE plant research laboratory. Thirty-Eighth Ann. Rept USA.—New York, 2003.—P. 19—26.
46. Zolman B. K., Silva I. D., Bartel B. The *Arabidopsis* pxa1 mutant is defective in an ATP-binding cassette transporter-like protein required for peroxisomal fatty acid β -oxidation // *Plant Physiol.*—2001.—127.—P. 1266—1278.
47. Del Rio L. A., Corpas F. J., Sandalio L. M., Palma J. M., Gomez M., Barroso J. B. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes // *J. Exp. Bot.*—2002.—53.—P. 1255—1272.
48. Olsen L. J. The surprising complexity of peroxisome biogenesis // *Plant Mol. Biol.*—1998.—38.—P. 163—189.
49. Ludwig-Muller J. Indole-3-butyric acid in plant growth and development // *Plant Growth Regul.*—2000.—32.—P. 219—230.
50. Rottensteiner H., Stein K., Sonnenhol E., Erdmann R. Conserved function of pex11p and the novel pex25p and pex27p in peroxisome biogenesis // *Mol. Biol. Cell*.—2003.—14.—P. 4316—4328.
51. Zolman B. K., Yoder A., Bartel B. Genetic analysis of indole-3-butyric acid responses in *Arabidopsis thaliana* reveals four mutant classes // *Genetics*.—2000.—156.—P. 1323—1337.
52. Davies T. G. E., Coleman J. O. D. The *Arabidopsis thaliana* ATP-binding cassette proteins: an emerging superfamily // *Plant Cell Environ.*—2000.—23.—P. 431—443.
53. Swartzman E. E., Viswanathan M. N., Thorner J. The PAL1 gene product is a peroxisomal ATP-binding cassette transporter in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *J. Cell Biol.*—1996.—132.—P. 549—563.
54. Holzinger A., Mayerhofer P., Berger J., Lichtner P., Kammerer S., Roscher A. A. Full length cDNA cloning, promoter sequence, and genomic organization of the human adrenoleukodystrophy related (ALDR) gene functionally redundant to the gene responsible for X-linked adrenoleukodystrophy // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1999.—258.—P. 436—442.
55. Van Veen H. W. Towards the molecular mechanism of prokaryotic and eukaryotic multidrug transporters // *Semin. Cell Develop. Biol.*—2001.—12.—P. 239—245.
56. Subramani S. Components involved in peroxisome import, biogenesis, proliferation, turnover, and movement // *Physiol. Rev.*—1998.—78.—P. 171—188.
57. Eastmond P. J., Hooks M. A., Williams D., Lange P., Bechtold N., Sarrobert C., Nussaume L., Graham I. A. Promoter trapping of a novel medium-chain acyl-CoA oxidase, which is induced transcriptionally during *Arabidopsis* seed germination // *J. Biol. Chem.*—2000.—275.—P. 34375—34381.
58. Richmond T. A., Bleecker A. B. A defect in β -oxidation causes abnormal in fluorescence development in *Arabidopsis* // *Plant Cell*.—1999.—11.—P. 1911—1923.

59. Hayashi M., Toriyama K., Kondo M., Nishimura M. 2,4-Dichlorophenoxybutyric acid-resistant mutants of *Arabidopsis* have defects in glyoxysomal fatty acid β -oxidation // *Plant Cell*.—1998.—10.—P. 183—195.
60. Hayashi M., Nito K., Toriyama-Kato K., Kondo M., Yamaya T., Nishimura M. AtPex14p maintains peroxisomal functions by determining protein targeting to three kinds of plant peroxisomes // *EMBO J*.—2000.—19.—P. 5701—5710.
61. Ситник К. М., Мусатенко Л. І., Васюк Н. П., Веденічева Н. П., Генералова В. М., Мартин Г. Г., Нестерова А. Н. Гормональний комплекс рослин і грибів.—Київ, 2003.—186 с.
62. Slovin J. P., Bandurski R. S., Cohen J. D. Auxin // *Biochemistry and molecular biology of plant hormones* / Eds P. J. J. Hooykaas, M. A. Hall, K. R. Libbenga.—Amsterdam: Elsevier Science BV, 1999.—P. 115—140.
63. Hall P. J. Indole-3-acetyl-myoinositol in kernels of *Oryza sativa* // *Phytochemistry*.—1980.—19.—P. 2121—2123.
64. Domagalski W., Schulze A., Bandurski R. S. Isolation and characterization of ester of indole-3-acetic acid from the liquid endosperm of the horse chestnut (*Aesculus* species) // *Plant Physiol*.—1987.—84.—P. 1107—1113.
65. Bialek K., Cohen J. D. Isolation and partial characterization of the major amide-linked conjugate of indole-3-acetic acid from *Phaseolus vulgaris* L. // *Plant Physiol*.—1986.—80.—P. 99—104.
66. Walz A., Park S., Slovin J. P., Ludwig-Muller J., Momonoki Y. S., Cohen J. D. A gene encoding a protein modified by the phytohormone indoleacetic acid // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—2002.—99.—P. 1718—1723.
67. Epstein E., Baldi B. G., Cohen J. D. Identification of indole-3-acetylglutamate from seeds of *Glycine max* L. // *Plant Physiol*.—1986.—12.—P. 256—258.
68. Michalczyk L., Bandurski R. S. Enzymic synthesis of 1-O-indol-3-ylacetyl- β -D-glucose and indol-3-ylacetyl-myoinositol // *Biochem. J*.—1982.—207.—P. 273—281.
69. Kesy J. M., Bandurski R. S. Partial purification and characterization of indol-3-ylacetyl- β -D-glucose: myoinositol indol-3-ylacetyltransferase (indoleacetic acid-inositol synthase) // *Plant Physiol*.—1990.—94.—P. 1598—1604.
70. Kowalczyk S., Jakubowska A., Zielinska E., Bandurski R. S. Bifunctional indole-3-acetyl transferase catalyses synthesis and hydrolysis of indole-3-acetyl-myoinositol in immature endosperm of *Zea mays* // *Physiol. Plantar*.—2003.—119.—P. 165—179.
71. Davies R. T., Goetz D. H., Lasswell J., Anderson M. N., Bartel B. IAR3 encodes an auxin conjugate hydrolase from *Arabidopsis* // *Plant Cell*.—1999.—11.—P. 365—376.
72. Klee H. J., Romano C. P. The roles of phytohormones in development as studied in transgenic plants // *Crit. Revs Plant Sci*.—1994.—13.—P. 311—324.
73. Klee H. J. The effects of overproduction of two *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA auxin biosynthetic gene products in transgenic petunia plants // *Genes and Develop*.—1987.—1.—P. 86—96.
74. Cosgrove D. J. Relaxation in a high-stress environment: The molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement // *Plant Cell*.—1997.—9.—P. 1031—1041.
75. Ito M. Factors controlling cyclin B expression // *Plant. Mol. Biol*.—2000.—43, N 5/6.—P. 677—690.
76. Setiady Y. Y., Sekine M., Hariguchi N., Yamamoto T., Kouchi H., Shinmyo A. Tobacco mitotic cyclins: cloning, characterization, gene expression and functional assay // *Plant J*.—1995.—8.—P. 949—957.
77. Hata S., Kouchi H., Suzuka J., Ishii T. Isolation and characterization of cDNA clones for plant cyclins // *EMBO J*.—1991.—10.—P. 2681—2688.
78. Golstyen R., Standart N., Mackie S., Colman A., Blow J., Ruderman J., Wu M., Hunt T. The role of cyclin synthesis, modification and destruction in the control of cell division // *J. Cell Sci*.—1989.—12.—P. 77—97.
79. Kouchi H., Sekine H., Hata S. Distinct classes of mitotic cyclins are differentially expressed in the soybean shoot apex during the cell cycle // *Plant Cell*.—1995.—7.—P. 1143—1155.
80. Nigg E. A. Cyclin-dependent protein kinases: key regulators of the eukaryotic cell cycle // *Bioessays*.—1995.—17.—P. 471—480.
81. Renaudin J. P., Doonan J. H., Freeman D., Hashimoto J., Hirt H., Inze D., Jacobs T. Plant cyclins: a unified nomenclature for plant A-, B- and D-type cyclins based on sequence organization // *Plant. Mol. Biol*.—1996.—32.—P. 1003—1018.
82. Szarka S., Fitch M., Schaerer S., Moloney M. Classification and expression of a family of cyclin gene homologues in *Brassica napus* // *Plant Mol. Biol*.—1995.—27.—P. 263—275.
83. Qin L. X., Perennes C., Richard K., Bouvier-Durand M., Trehin C., Inze D., Bergounioux C. G2 and early M-specific expression of the NTCY1 cyclin gene in *Nicotina tabacum* cells // *Plant Mol. Biol*.—1996.—32.—P. 1093—1101.
84. Stals H., Casteels P., Van Montagu M., Inze D. Regulation of cyclin-dependent kinases in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Mol. Biol*.—2000.—43, N 5/6.—P. 583—593.
85. Ito M., Iwase M., Kodama H., Lavisse P., Komanine A., Nishihama R., Machido Y., Watanabe A. A novel cis-acting element in promoters of plant B-type cyclin genes activates M phase-specific transcription // *Plant Cell*.—1998.—10.—P. 331—341.
86. Dudits D., Magyar Z., Deak M., Meszaros T., Miskolczi P., Feher A., Brown S., Kondorosi E., Athanasiadis A., Pongor S., Bako L., Koner G., Gyorgyey J. Cyclin-dependent and calcium-dependent kinase families: response of cell division cycle to hormone and stress signals // *Plant Cell Division* / Eds D. Francis, D. Dudits, D. Inze.—London: Portland press, 1998.—P. 21—45.
87. Mironov V., De Veylder L., Van Montagu M., Inze D. Cyclin-dependent kinases and cell division in plants: the nexus // *Plant Cell*.—1999.—11.—P. 509—522.
88. Nigg E. A. Cyclin-dependent kinase 7: at the cross-roads of transcription, DNA repair and cell cycle control? // *Curr. Opin. Cell. Biol*.—1996.—8.—P. 312—317.
89. Meszaros T., Miskolczi P., Ayaydin F., Pettko-Szandither A., Peres A., Magyar Z., Horvath G. V., Bako L., Feher A., Dudits D. Multiple cyclin-dependent kinase complexes and phosphatases control G2/M progression in alfalfa cells // *Plant Mol. Biol*.—2000.—43, N 5/6.—P. 595—605.
90. Segers G., Rouze P., Van Montagu M., Inze D. Cyclin-dependent kinases in plants // *Plant cell proliferation and its regulation in growth and development* / Eds J. Bryant, J. Wiley.—Chichester: UK, 1997.—P. 1—19.
91. Joubes J., Chevalier C., Dudits D., Heberle-Bors E., Inze D., Umeda M., Renaudin J. P. CDK-related protein kinases in plants // *Plant Mol. Biol*.—2000.—43, N 5/6.—P. 607—620.
92. Joubes J., Chevalier C. Endoreduplication in higher plants // *Plant Mol. Biol*.—2000.—43, N 5/6.—P. 735—745.
93. Trehin C., Planchars S., Glab N., Perennes C., Treglar J., Bergounioux C. Cell cycle regulation of plant growth regu-

- lators: involvement of auxin and cytokinin in the re-entry of *Petunia* protoplasts into the cell cycle // *Planta*.—1998.—206.—P. 215—224.
94. Segers G., Gadisseur T., Bergounioux C., Engler J., Jasquard A., Van Montagu M., Inze D. The *Arabidopsis* cyclin-dependent kinase gene *cdc2bAt* is preferentially expressed during S and G2 phases of the cell cycle // *Plant J.*—1996.—10.—P. 601—612.
 95. Zhang K., Letham D. S., John P. C. L. Cytokinin controls the cell cycle at mitosis by stimulating tyrosine dephosphorylation and activation of P 34cdc2-like H1 histone kinase // *Planta*.—1996.—200.—P. 2—12.
 96. Wheatley S. P., Hinchcliff E. H., Glotzer M., Hyman A. A., Sluder G., Wang Y. I. CDK1 inactivation regulates anaphase spindle dynamics and cytokinesis *in vivo* // *J. Cell Biol.*—1997.—138.—P. 385—393.
 97. Hush J. M., Wu L., John P. C. L., Hepler L. H., Hepler P. K. Plant mitosis promoting factors disassembles the microtubule preprophase band and accelerates prophase progression in *Tradescantia* // *Cell Biol. Int.*—1996.—20.—P. 275—287.
 98. Binarova P., Dolezel J., Draber P., Heberle-Bors E., Strnad M., Bogre L. Treatment of *Vicia faba* root tip cells with specific inhibitors to cyclin-dependent kinases leads to abnormal spindle formation // *Plant J.*—1998.—16.—P. 697—707.
 99. Colasanti J., Cho S. O., Wick S., Sundaresan V. Localization of the functional p34cdc2 homologue of maize in root tip and stomatal complex cells: association with predicted division sites // *Plant Cell.*—1993.—5.—P. 1101—1111.
 100. Asada T., Kuriyama R., Shibaoka H. TKRP125, a kinesin-related protein involved in the centrosome-independent organization of the cytokinetic apparatus in tobacco BY-2 cells // *J. Cell Sci.*—1997.—110.—P. 179—189.
 101. Measday V., Moore L., Retnakaran R., Lee J., Donoviel M., Neiman A. M., Andrews B. A family of cyclin-like proteins that interacts with Pho85 cyclin-dependent kinase // *Mol. Cell Biol.*—1997.—17.—P. 1212—1223.
 102. Durfel T., Feiler H. S., Gruissem W. Retinoblastoma-related proteins in plants: homologues or orthologues of their metazoan counterparts? // *Plant Mol. Biol.*—2000.—43.—P. 635—642.
 103. Belmont L., Mitchison T. Identification of a protein that interacts with tubulin dimers and increases the catastrophe rates of microtubules // *Cell.*—1996.—84.—P. 623—631.
 104. Liu B., Cyr R., Palevitz B. A. A kinesin-like protein, KatAp, in the cell of *Arabidopsis* and other plants // *Plant Cell.*—1996.—8.—P. 119—132.
 105. Vos J. W., Safadi F., Reddy A. S., Hepler P. K. Kinesin-like calmodulin-binding protein is differentially involved in cell division // *Plant Cell.*—2000.—12.—P. 979—990.
 106. Asada T., Collings D. Molecular motors in higher plants // *Trends Plant Sci.*—1997.—2.—P. 29—37.
 107. Zimmerman W., Sparks C. A., Doxsey S. J. Amorphous no longer: the centrosome comes into focus // *Curr. Opin Biol.*—1999.—11.—P. 122—128.
 108. Dictenberg J. B., Zimmerman W., Sparks C. A., Young A., Vidair C., Zheng Y., Carrington W., Fay F. S., Doxsey S. J. Pericentrin and β -tubulin form a protein complex and are organised into a novel lattice at the centrosome // *J. Cell Biol.*—1998.—141.—P. 163—174.
 109. Durso N. A., Cyr R. J. A calmodulin-sensitive interaction between microtubules and a higher plant homologue of protein translation elongation factor EF- α // *Plant Cell.*—1994.—6.—P. 893—905.
 110. Vantard M., Cowling R., Delichere C. Cell cycle regulation of the microtubular cytoskeleton // *Plant Mol. Biol.*—2000.—43.—P. 691—703.
 111. Cai G., Romagnoli S., Moscatelli A., Cresti M. Evidence for microtubule-based organelle transport in the pollen tube // *Cell biology of plant and fungal tip growth* / Eds A. Geitmann, M. Cresti.—Amsterdam: IOS press, 2001.—P. 1—12.
 112. Moscatelli A., Cai G., Cresti M. Dynein related polypeptides during pollen tube growth // *Cell biology of plant and fungal tip growth* / Eds A. Geitmann, M. Cresti.—Amsterdam: IOS press, 2001.—P. 13—26.
 113. Vidali L., Holdaway-Clarke M., Hepler P. K. The calcium/cytoskeleton connection in pollen tube growth // *Cell biology of plant and fungal tip growth* / Eds A. Geitmann, M. Cresti.—Amsterdam: IOS press, 2001.—P. 27—35.
 114. Heath B., Skalamera D. Regulation of tip morphogenesis by the cytoskeleton and calcium ions // *Cell biology of plant and fungal tip growth* / Eds A. Geitmann, M. Cresti.—Amsterdam: IOS press, 2001.—P. 37—53.
 115. Yokota E., Muto S., Shimmen T. Inhibitory regulation of higher-plant myosin by Ca²⁺ ions // *Plant Physiol.*—1999.—119.—P. 231—240.
 116. Yokota E., Muto S., Shimmen T. Ca²⁺-calmodulin suppresses the F-actin binding activity of a 135 kDa actin-bundling protein isolated from lily pollen tubes // *Plant Physiol.*—2000.—123.—P. 645—654.
 117. Mendentrall M. D., Hodge A. E. Regulation of *cdc 28* cyclin-dependent protein kinase activity during the cell cycle of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*—1998.—62.—P. 1191—1243.
 118. Goverse A., de Almeida Engler J., Verhees J., Van der Krol S., Helder J., Cheysen G. Cell cycle activation by plant parasitic nematodes // *Plant Mol. Biol.*—2000.—43, N 5/6.—P. 747—761.
 119. Tassan J. P., Jaquenoud M., Leopold P., Schultz S. J., Nigg E. A. Identification of human cyclin-dependent kinase 8, a putative protein kinase partner for cyclin C // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1995.—92.—P. 8871—8875.
 120. Bursens S., Van Montagu M., Inze D. The cell cycle in *Arabidopsis* // *Plant Physiol. Biochem.*—1998.—36.—P. 9—19.
 121. John P. C., Zhang K., Dong C., Diederich L., Wightman F. p34cdc2 related proteins in control of cell cycle progression, the switch between division and differentiation in tissue development and stimulation of division by auxin and cytokinin // *Aust. J. Plant Physiol.*—1993.—20.—P. 503—526.
 122. Wang H., Qi Q., Schorr P., Cutler A. J., Crosby W. L., Fowke L. C. ICK1, a cyclin-dependent protein kinase inhibitor from *Arabidopsis thaliana* interacts with both Cdc2a and Cyc D3 and its expression is induced by abscisic acid // *Plant J.*—1998.—15.—P. 501—510.
 123. Reding P., Shoul O., Inze D., Van Montagu M., Van Orckelen H. Levels of endogenous cytokinins, indole-3-acetic acid and abscisic acid during the cell cycle of synchronized tobacco BY-2 cells // *FEBS Lett.*—1996.—391.—P. 175—180.
 124. Doerner P., Jorgensen J. E., You R., Steppuhn J., Lamb C. Control of root growth and development by cyclin expression // *Nature.*—1996.—380.—P. 520—523.
 125. Chung S. K., Parish R. W. Studies on the promoter of *Arabidopsis thaliana cdc2a* gene // *FEBS Lett.*—1995.—362.—P. 215—219.
 126. Bogre L., Meskiene I., Heberle-Bors E., Hirf H. Stressing the role of MAP kinases in mitogenic stimulation // *Plant Mol. Biol.*—2000.—43, N 5/6.—P. 705—718.
 127. Kültz D. Phylogenetic and functional classification of mitogen-

- and stress-activated protein kinases // *J. Mol. Evol.*—1998.—46.—P. 571—588.
128. Hirt H. MAP kinases in plant signal transduction // *Results Probl. Cell. Differ.*—2000.—27.—P. 1—9.
129. Kultz D. Phylogenetic and functional classification of mitogen- and stress-activated protein kinases // *J. Mol. Evol.*—1998.—46.—P. 571—588.
130. Mizoguchi T., Gotoh Y., Nishida E., Yamaguchi-Shinozaki K., Hayashida N., Iwasaki T., Kamada H., Shinozaki K. Characterization of two cDNAs that encode MAP kinase homologues in *Arabidopsis thaliana* and analysis of the possible role of auxin in activating such kinase activities in cultured cells // *Plant J.*—1994.—5.—P. 111—122.
131. Morris P. C., Guerrier D., Leung J., Giraudat J. Cloning and characterization of MEK1, an *Arabidopsis* gene encoding a homologue of MAP kinase kinase // *Plant Mol. Biol.*—1997.—35.—P. 1057—1064.
132. Jonak C., Kiegerl S., Ligterink W., Barker P. J., Huskisson N. S., Hirt H. Stress signalling in plants: a MAP kinase pathway is activated by cold and drought // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1996.—93.—P. 11274—11279.
133. Hunter T. Signalling: 2000 and beyond // *Cell.*—2000.—100.—P. 113—127.
134. Decroocq-Ferrant V., Decroocq S., Van Went J., Schmidt E., Kreis M. A homolog of the MAP/ERK family of protein kinase genes is expressed in vegetative and in female reproductive organs of *Petunia hybrida* // *Plant. Mol. Biol.*—1995.—27.—P. 339—350.
135. Romeis T., Piedras P., Zhang S. Q., Klessig D. F., Hirt H., Jones J. Rapid Avr 9- and cf-9-dependent activation of MAP kinases in tobacco cell cultures and leaves: convergence of resistance gene, elicitor, wound, and salicylate responses // *Plant Cell.*—1999.—11.—P. 273—287.
136. Ligterink W., Kroj T., zur Nieden U., Hirt H., Schell D. Receptor-mediated activation of MAP kinase in pathogen defence of plants // *Science.*—1997.—276.—P. 2054—2057.
137. Kovtun Y., Chiu W. L., Tena G., Sheen J. Functional analysis of oxidative stress-activated MAPK cascade in plants // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2000.—97.—P. 2940—2945.
138. Seo S., Okamoto M., Seto H., Ishizuka K., Sano H., Ohashi Y. Tobacco MAP kinase: A possible mediator in wound signal transduction pathways // *Science.*—1995.—270.—P. 1988—1992.
139. Nishida E., Gotoh Y. Mitogen-activated protein kinase and cytoskeleton in mitogenic signal transduction // *Int. Rev. Cytol.*—1992.—138.—P. 211—238.
140. Bogre L., Calderini O., Meskiene I., Binarova P. Regulation of the cell division and the cytoskeleton by mitogen-activated protein kinases in higher plants // *Results Probl. Cell. Differ.*—2000.—27.—P. 95—117.
141. Reszka A. A., Seger R., Diltz C. D., Krebs E. G., Ficher E. H. Association of mitogen-activated protein kinase with the microtubule cytoskeleton // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1995.—92.—P. 8881—8885.
142. Machida Y., Nishihama R., Kitakura S. Progress in studies of plant homologs of mitogen-activated protein (MAP) kinase and potential upstream components in kinase cascades // *Crit. Revs Plant Sci.*—1997.—16.—P. 481—496.
143. Garrington T. P., Johnson G. L. Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways // *Curr. Opin. Biol.*—1999.—11.—P. 211—218.
144. Hamal A., Jouannic A. S., Leprince M., Kreis M., Henry Y. Molecular characterisation and expression of an *Arabidopsis thaliana* L. MAP kinase kinase cDNA, AtMAP2Ka // *Plant Sci.*—1999.—140.—P. 49—64.
145. Ichimura K., Mizoguchi T., Hayashida N., Seki M., Schinozaki K. Molecular cloning and characterization of three cDNAs encoding putative mitogen-activated protein kinase kinases (MAPKKs) in *Arabidopsis thaliana* // *DNA Res.*—1998.—5.—P. 341—348.
146. Jouannic S., Hamal A., Leprince A. S., Tregear J. W., Kreis M., Henry Y. Characterisation of novel plant genes encoding MEKK/STE11 and RAF-related protein kinases // *Gene.*—1999.—229.—P. 171—181.
147. Leprince A. S., Jouannic S., Hamal A., Kreis M., Henry Y. Molecular characterisation of plant cDNAs BnMAP4Ka1 and BnMAP4Ka2 belonging to the GCK/SPS1 subfamily of MAP kinase kinase kinase // *Biochim. et Biophys. Acta.*—1999.—1444.—P. 1—13.
148. Rommel C., Hafen E. Ras, a versatile cellular switch // *Curr. Biol.*—1998.—8.—P. 412—418.
149. Ulmasov T., Hagen G., Guilfoyle T. G. ARF1, a transcription factor that binds to auxin response elements // *Science.*—1997.—276.—P. 1865—1868.
150. Mockaitis K., Howell S. H. Auxin induces mitogenic protein kinase (MAPK) activation in roots of *Arabidopsis* seedlings // *Plant J.*—2000.—24, N 6.—P. 785—796.
151. Kieber J. I., Rothenberg M., Roman C., Feldmann K. A., Ecker J. A. CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the Raf family of protein kinases // *Cell.*—1993.—72.—P. 427—441.
152. Jesus M. M., Carbonell J. Transient expression of a pea MAP kinase gene induced by gibberellic acid and 6-benzyladenine in unpolinated pea ovaries // *Plant Mol. Biol.*—2000.—44.—P. 177—186.
153. Solano R., Ecker J. P. Ethylene gas: perception, signalling and response // *Curr. Opin. Plant Biol.*—1998.—1.—P. 393—398.
154. Knetch M. L. W., Wang M., Snaar-Jagalska B. E., Heimovaara-Dijkstra S. Abscisic acid induces mitogen-activated protein kinase activation in barley aleurone protoplasts // *Plant Cell.*—1996.—8.—P. 1061—1067.
155. Patton E. E., Willems A. R., Tyers M. Combinatorial control in ubiquitin-dependent proteolysis: don't Skp the F-box hypothesis // *Trends Genet.*—1998.—14.—P. 236—243.
156. Gray W. M., del Pozo J. C., Walker L., Hobbie L., Risseuw E., Banks T., Crosby W. L., Yang M., Ma H., Estelle M. Identification of a SCF ubiquitin-ligase complex required for auxin response in *Arabidopsis thaliana* // *Genes and Develop.*—1999.—13.—P. 1678—1691.
157. Rogers S., Wells R., Rechsteiner M. Amino acid sequences common to rapidly degraded proteins: the PEST hypothesis // *Science.*—1986.—243.—P. 364—368.
158. Hobbie L., Estelle M. The axr4 auxin-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* define a gene important for root gravitropism and lateral root initiation // *Plant J.*—1995.—7.—P. 211—220.
159. Nakashima M., Hirano K., Nakashima S., Banno H., Nishihama R., Machida Y. The expression pattern of the gene for NPK1 protein kinase related to mitogen-activated protein kinases kinase kinase (MAPKKK) in a tobacco plant: correlation with cell proliferation // *Plant Cell Physiol.*—1998.—39.—P. 690—700.
160. Nishihama R., Machida Y. The MAP kinase cascade that includes MAPKKK-related protein kinase NPK1 controls a mitotic process in plant cells // *Results Probl. Cell Differ.*—2000.—27.—P. 119—130.

161. *Monroe-Augustus M., Zolman B. K., Bartel B.* IBRS, a dual-specificity phosphatase-like protein modulating auxin and abscisic acid responsiveness in *Arabidopsis* // *Plant Cell*.—2003.—15.—P. 2979—2991.
162. *Faroog A., Plotnikova O., Chaturvedi G., Yan S., Zeng L., Zhang Q., Zhou M. M.* Solution structure of the MAPK phosphatase PAC-1 catalytic domain: insights into substrate-induced enzymatic activation of MAPK // *Structure*.—2003.—11.—P. 155—164.
163. *Showalter A. M.* Structure and function of plant cell wall proteins // *Plant Cell*.—1993.—5.—P. 9—23.
164. *Pauly M., Albersheim P., Darvill A., York W. S.* Molecular domains of the cellulose/xyloglucan network in the cell walls of higher plants // *Plant J*.—1999.—20.—P. 629—639.
165. *Willats W. G. T., Steele-King C. G., Marcus S. E., Knox J. P.* Side chains of pectic polysaccharides are regulated in relation to cell proliferation and cell differentiation // *Plant J*.—1999.—20.—P. 619—628.
166. *Levy S., Staehelin A.* Synthesis, assembly and function of plant cell wall macromolecules // *Curr. Opin. Cell Biol*.—1992.—4.—P. 856—862.
167. *Hadfield K. A., Bennet A. B.* Polygalacturonases: many genes in search of a function // *Plant Physiol*.—1998.—117.—P. 337—343.
168. *Heyn A. N. J.* Molecular basis of auxin-regulated extension growth and role of dextranase // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1981.—78.—P. 6608—6612.
169. *Poter I., Fry S. C.* Xyloglucan endotransglycosylase activity in pea internodes // *Plant Physiol*.—1993.—103.—P. 235—241.
170. *Delmer D. P.* Cellulose biosynthesis // *Annu. Rev. Plant Physiol*.—1987.—38.—P. 259—290.
171. *Delmer D. P., Solomon N., Read S. M.* Direct photolabeling with [³²P]UDP-glucose for identification of a subunit of cotton fiber callose synthase // *Plant Physiol*.—1991.—95.—P. 556—563.
172. *Cyr R. J.* Microtubules in plant morphogenesis: role of the cortical array // *Annu. Rev. Cell. Biol*.—1994.—10.—P. 153—180.
173. *Hussey P. J., Silflow C. D.* Tubulin gene expression in higher plants // *The cytoskeletal basis of plant growth and form* / Ed. S. W. Lloyd.—San Diego: Acad. press, 1991.—P. 15—28.
174. *Blume Ya., Smertenko A., Ostapets N. N., Viklicky V., Draber P.* Post-translational modifications of plant tubulin // *Cell Biol. Int*.—1998.—21, N 12.—P. 918—920.
175. *Cyr R. J.* Calcium/calmodulin affects microtubule stability in lysed protoplasts // *J. Cell Sci*.—1991.—100.—P. 311—317.
176. *Giddings T. H., Staehelin L. A.* Microtubule-mediated control of microfibril deposition: a re-examination of the hypothesis // *The cytoskeletal basis of plant growth and form* / Ed. C. W. Lloyd.—San Diego: Acad. press, 1991.—P. 85—100.
177. *Lee Y., Kende H.* Expression of β -expansins is correlated with internodal elongation in deepwater rice // *Plant Physiol*.—2001.—127.—P. 645—654.
178. *Catala C., Rose J. K. C., Bennett A. B.* Auxin-regulated genes encoding cell wall-modifying proteins are expressed during early tomato fruit growth // *Plant Physiol*.—2000.—122.—P. 527—534.
179. *Caderas D., Muster M., Vogler H., Mandel T., Rose J. K. C., McQueen-Mason, Kuhlemeier C.* Limited correlation between expansin gene expression and elongation growth rate // *Plant Physiol*.—2000.—123.—P. 1399—1414.
180. *Carpita N. C., Defernes M., Findlay K., Wells B., Shoue D., Catchpole G., Wilson R. H., McCann M.* Cell wall architecture of the elongating maize coleoptile // *Plant Physiol*.—2001.—127.—P. 551—565.
181. *Catala C., Rose J. K. S., York W. S., Albersheim P., Darvill A. G., Bennett A. B.* Characterization of a tomato xyloglucan endotransglycosylase gene that is down-regulated by auxin in etiolated hypocotyls // *Plant Physiol*.—2001.—127.—P. 1180—1192.
182. *Catala C., Rose J. K. C., Bennett A. B.* Auxin-regulated genes encoding cell wall modifying proteins are expressed during early tomato fruit growth // *Plant Physiol*.—2000.—122.—P. 527—534.
183. *Schunmann P. H. D., Smith R. C., Lang V., Matthews P. R., Chandler P. M.* Expression of XET-related genes and its relation to elongation in leaves of barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Plant Cell Environ*.—1997.—20.—P. 1439—1450.
184. *Zurek D. M., Clouse S. D.* Molecular cloning and characterization of a brassinosteroid-regulated gene from elongating soybean (*Glycine max* L.) epycotyls // *Plant Physiol*.—1994.—104.—P. 161—170.
185. *Barrachina C., Lorences E. P.* Xyloglucan endotransglycosylase activity in pine hypocotyls: intracellular localization and relationship with endogenous growth // *Physiol. Plant*.—1998.—102.—P. 55—60.
186. *Schroder R., Atkinson R. G., Langenkamper G., Redgwell R. J.* Biochemical and molecular characterization of xyloglucan endotransglycosylase from ripe kiwifruit // *Planta*.—1998.—204.—P. 242—251.
187. *Arrowsmith D. A., de Silva J.* Characterization of two tomato fruit-expressed cDNAs encoding xyloglucan endotransglycosylases // *Plant Mol. Biol*.—1995.—28.—P. 391—403.
188. *Koka C. V., Cerny R. E., Gardner R. G., Noguchi T., Fujioka S., Takatsuto S., Yoshida S., Clouse S. D.* A putative role for the tomato genes DUMPY and CURL-3 in brassinosteroid biosynthesis and response // *Plant Physiol*.—2000.—122.—P. 85—98.
189. *Campbell P., Braam J.* Xyloglucan endotransglycosylases: diversity of genes, enzymes and potential wall-modifying functions // *Trends Plant Sci*.—1999b.—4.—P. 361—366.
190. *Kotake T., Nakagawa N., Takeda K., Sakurai N.* Auxin-induced elongation growth and expressions of cell wall-bound exo- and endo- β -glucanases in Barley coleoptiles // *Plant and Cell Physiol*.—2000.—41.—P. 1272—1278.
191. *Molhoj M., Ulvskov P., Degan F. D.* Characterization of a functional soluble form of a *Brassica napus* membrane-anchored endo-1,4- β -glucanase heterologously expressed in *Pichia pastoris* // *Plant Physiol*.—2001.—127.—P. 674—684.
192. *Kim J. B., Olek A. T., Carpita N. C.* Plasma membrane and cell wall exo- β -D-glucanases in developing maize coleoptiles // *Plant Physiol*.—2000.—123.—P. 471—485.
193. *Yuan S., Wu Y., Cosgrove D. J.* A fungal endoglucanase with plant cell wall extension activity // *Plant Physiol*.—2001.—127.—P. 324—333.
194. *Монзави-Карбасси Б., Голденков И. В., Дарбинян Н. С., Кобец Н. С., Василевко В. С., Пирузян Э. С.* Эффективная секреция бактериальной β -глюканазы в межклеточное пространство трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* // *Молекуляр. генетика*.—1998.—34.—С. 475—479.
195. *Kyung-Hoan J., Gosgrove D. J., Jones A. M.* Subcellular localization of expansin mRNA in xylem cells // *Plant Physiol*.—2000.—123.—P. 463—470.
196. *Cosgrove D. J.* Loosening of plant cell walls by expansins // *Nature*.—2000.—407.—P. 321—326.
197. *Whitney S. E., Gidley M. J., McQueen-Mason S.* Probing

- expansin action using cellulose/hemicellulose composites // *Plant J.*—2000.—22.—P. 327—334.
198. Kim H. J., Triplett B. A. Cotton fiber growth in planta and in vitro. Models for plant cell elongation and cell wall biogenesis // *Plant Physiol.*—2001.—127.—P. 1361—1366.
199. Lane D. R., Wiedemeier A., Peng L., Hofte H., Vernhettes S., Desprez T., Hocart C. H., Birch R. J., Baskin T. I., Burn J. E. Temperature sensitive alleles of RSW2 link the KORRIGAN endo-1,4- β -glucanase to cellulose synthesis and cytokinesis in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol.*—2001.—126.—P. 278—288.
200. Zuo J., Niu Q. W., Nishizawa N., Wu Y., Kost B., Chua N. H. KORRIGAN, an *Arabidopsis* endo-1,4- β -glucanase, localizes to the cell plate by polarized targeting and is essential for cytokinesis // *Plant Cell.*—2000.—12.—P. 1137—1152.
201. Molhoj M., Jorgensen B., Ulvskov P., Borkhardt B. Two *Arabidopsis thaliana* genes, KOR2 and KOR3, which encode membrane-anchored endo-1,4- β -glucanases are differentially expressed in developing leaf trichomes and their support cells // *Plant Mol. Biol.*—2001.—46.—P. 263—275.
202. Brummell D. A., Catala C., Lashbrook C. C., Bennett A. B. A membrane-anchored E-type endo-1,4- β -glucanase is localized on Golgi and plasma membranes of higher plants // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1997.—94.—P. 4794—4799.
203. Peng L., Hocart C. H., Redmond J. W., Williamson R. E. Fractionation of carbohydrates in *Arabidopsis* root cell walls shows that three radial swelling loci are specifically involved in cellulose production // *Planta.*—2000.—211.—P. 406—414.
204. Faik A., Price N. J., Raikhel N. V., Keegstra K. An *Arabidopsis* gene encoding an β -xylosyltransferase involved in xyloglucan biosynthesis // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2002.—99.—P. 7797—7802.
205. Dhugga K. S., Barreiro R., Whitten B., Stecca K., Hazebroek J., Randhawa G. S., Dolan M., Kinney A. J., Tomes D., Nichols S., Anderson P. Guar seed β -mannan synthase is a member of the cellulose synthase super gene family // *Science.*—2004.—303.—P. 363—366.
206. Keegstra K., Walton J., Wilkerson C. Cell wall metabolism // MSU-DOE Plant Research Laboratory. Thirty-Eighth Annu. Rept. USA.—New York, 2003.—P. 101—109.
207. Sarria R., Wagner T. A., O'Neill M. A., Faik A., Wilkerson C. G., Keegstra K., Raikhel N. V. Characterization of a family of *Arabidopsis* genes related to xyloglucan fucosyltransferase // *Plant Physiol.*—2001.—127.—P. 1595—1606.
208. Perrin R. M., Jia Z., Wagner T. A., O'Neill M. A., Sarria R., York W. S., Raikhel N. V., Keegstra K. Analysis of xyloglucan fucosylation in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.*—2003.—132.—P. 768—778.
209. Faik A., Bar-Peled M., DeRocher A. E., Zeng W., Perrin R. M., Wilkerson C., Raikhel N. V., Keegstra K. Biochemical characterization and molecular cloning of an β -1,2-fucosyltransferase that catalyzes the last step of cell wall xyloglucan biosynthesis in pea // *J. Biol. Chem.*—2000.—275.—P. 15082—15089.
210. Edwards M. E., Dickson C. A., Chengappa S., Sidebottom C., Gidley M. J., Reid J. S. Molecular characterization of a membrane-bound galactosyltransferase of plant cell wall matrix polysaccharide biosynthesis // *Plant J.*—1999.—19.—P. 691—697.
211. Madson M., Dunand C., Li X., Verma R., Vanzin G. F., Caplan J., Shoue D. A., Carpita N. C., Reiter W. D. The MUR3 gene of *Arabidopsis thaliana* encodes a xyloglucan galactosyltransferase that is evolutionarily related to animal exostosins // *Plant Cell.*—2003.—15.—P. 1662—1670.
212. Keegstra K., Raikhel N. Plant glycosyltransferases // *Curr. Opin. Plant Biol.*—2001.—4.—P. 219—224.
213. Walton J. D., Ray P. M. Inhibition by light of growth and Golgi-localized glucan synthetase activity in the maize mesocotyl // *Planta.*—1982.—156.—P. 309—313.
214. Walton J. D., Ray P. M. Auxin controls Golgi-localized glucan synthetase in the maize mesocotyl // *Planta.*—1982.—156.—P. 302—308.
215. Ahn J. H., Choi Y., Kwon Y. M., Kim S. G., Choi Y. D., Lee J. S. A novel extensin gene encoding a hydroxyproline-rich glycoprotein requires sucrose for its wound-inducible expression in transgenic plants // *Plant Cell.*—1996.—8.—P. 1477—1490.
216. Jackson P. A. P., Galinha C. I. R., Pereira C. S., Fortunato A., Soares N. C., Amancio S. B. Q., Pinto Ricardo C. P. Rapid deposition of extensin during the elicitation of grapevine callus cultures is specifically catalyzed by a 40-kilodalton peroxidase // *Plant Physiol.*—2001.—127.—P. 1065—1076.
217. Magliano T. M. A., Casal J. J. In vitro cross-linking of extensin precursors by mustard extracellular isoforms of peroxidase that respond either to phytochrome or to wounding // *J. Exp. Bot.*—1998.—49.—P. 1491—1499.
218. Brisson L. F., Tenhaken R., Lamb C. Function of oxidative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance // *Plant cell.*—1994.—6.—P. 1703—1712.
219. Краснобаев Н. Н., Бороденко Л. И., Горденков А. В., Калиберная Э. В., Гуськов А. В., Жизневская Г. Я., Измайлов С. У. Влияние ИУК на изоферментный спектр пероксидаз в индуцированных к ризогенезу черенках фасоли // Тез. докл. IV междунар. конф. «Регуляторы роста и развития растений».—М.: Изд-во Мос. гос. агр. ун-та, 1997.—С. 101—102.
220. Кефели В. И. Регуляторы роста растений // Физиология растений на службе продовольственной программы СССР.—М.: Знание, 1988.—С. 18—31.

УДК 631.811.98
Надійшла до редакції 26.12.03