

УДК 575:581.144.2:581.133.8:582.683.2

## ТЕОРИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО РОСТА КЛЕТОК РАСТЯЖЕНИЕМ

Хаблак С. Г., Абдуллаева Я. А.

Луганский национальный аграрный университет, Луганск, serhab\_211981@rambler.ru

Изложена новая теория роста клеток растяжением, которая объясняет механизм, посредством которого гормоны стимулируют элонгацию клеток. Показано, что первичное действие ауксинов обусловлено не подкислением клеточной стенки, а активацией рецепторов в плазмалемме клеток, что приводит к изменению генной активности и синтезу ферментов, вызывающих разрыхление оболочки клетки.

*Ключевые слова:* теория, рост, клетка, фермент, ауксин, ген, рецептор.

### ВВЕДЕНИЕ

Рост растяжением является основополагающей особенностью растительных организмов. Механизм резкого возрастания скорости роста при переходе и растяжении до сих пор неясен.

В середине 30-х годов прошлого века немецкие ученые С. Штруггер и У. Ругге в опытах с отрезками проростков подсолнечника установили, что регуляция роста клеток осуществляется путем изменения концентрации водородных ионов ( $H^+$ ). Ученые пришли к выводу, что главное в действии ионов  $H^+$  – набухание пектиновых веществ клеточных стенок, в результате чего разрыхляется прочный целлюлозный каркас. Это направление исследований в биологии получило название концепции «кислого роста» [1].

В 1973 году американские ученые А. Хагер, Г. Менцель и А. Краусс, исследуя эффект «кислого роста» у проростков подсолнечника и отрезков coleoptилей овса, разработали теорию так называемого «кислого роста» [2]. Суть ее заключается в том, что ауксин активирует работу  $H^+$ -помпы (ионный насос) в плазматической мембране, которая перекачивает к ней из внутренней области клетки ионы  $H^+$ . Вследствие чего локально снижается величина рН в том или ином ее участке. Снижение величины рН усиливает активность гидролитических ферментов, вызывающих разрыхление оболочки клетки, что является необходимым условием для роста клеток растяжением.

Тем не менее, в 80–90 годах прошлого столетия было установлено, что существование ауксин-зависимой активации  $H^+$ -помпы и роста клеток растяжением наблюдается не всегда и поэтому сейчас теория «кислого роста» ставится под сомнение [3]. В этой связи исследования о зависимости процессов роста и выделения протонов клетками растений продолжаются.

Целью данной работы является представление новой теории роста клеток растяжением.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотипа (расы) Columbia (Col-O) и мутантных линий, нарушающие развитие

корневых волосков. Семена линий были получены из Ноттингемского центра образцов арабидопсиса (Nottingham *Arabidopsis* Stock Centre, UK).

Растения выращивали в асептической пробирочной культуре на агаризованной питательной среде Кнопа, обогащенной микроэлементами [4]. Питательную смесь разливали в химические пробирки размером 14×120 мм и закрывали их плотными ватными пробками.

Семена к посеву готовили путем яровизации в течение 5 суток при температуре 4–6 °С и последующего односуточного проращивания при комнатной температуре. Пробирки для предохранения от нагревания и попадания света на корни растений обертывали двумя слоями бумаги. Растения культивировали при температуре 18–20 °С, освещенность круглосуточная в пределах от 4000 до 7000 лк.

При проведении наблюдений за растениями руководствовались общепринятыми методиками вегетационных и сравнительно-морфологических исследований [5]. Учет количества корневых волосков, их длину и толщину в корневых системах у растений экотипа Col-0 и исследуемых мутантных линий проводили в фазе второй пары настоящих листьев под микроскопом типа МБС-9. Объем выборки у расы Col-0 и мутантных линий, вызывающих нарушение в строении волосков эпиблемы, составлял по 30 растений. Математическую обработку результатов проводили по методам, описанным Б. А. Доспеховым [5].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Корневые волоски у растений являются удобным объектом для изучения механизма гормон-регулируемой элонгации клеток. В последние годы большие успехи были достигнуты в получении мутантных растений у *A. thaliana*, нарушающих образование корневых волосков. К ним относятся мутантные линии *rhd1-1*, *rhd2-1*, *rhd3-1*, *rhd4-1*, *rhd6-1*, *axr-1*, *axr2-1/iaa7*, *axr3-1/iaa17*, *keu-1*, *etr1-1*, *eto1-1*, *trh1-1*, *tip1-1*, *kjk3-1*, *shv1-1*, *shv2-1*, *shv3-1*, *bst1-1*, *cow1-1*, *cen1-1*, *cen2-1*, *cen3-1*, *scn1-1*, *aux1-7*, *lrx-1*, *phyA*, *phyB*, *sar-1*, *cpc-1*, *erh1-1*, *gl-2*, *rhl1-1*, *ttg-1*, *wer-1*, *ctr1-2*, *ein2-1*, *pfn1-1*, *lrx-1*, *trn1-1* и *trn2-1*. Анализ подробного изучения строения выростов клеток эпиблемы кожицы корня у растений этих мутантных линий показал, что у них корневые волоски очень разнообразны в очертании и отличаются между собой по длине, количеству, форме и степени ветвления (табл. 1).

В этой связи в зависимости от особенностей влияния данных мутантных линий на строение волосков эпиблемы гены, принимающие участие в их развитии, можно разделить на две большие группы.

В первую группу входят гены, вызывающие формирование корневых волосков. К ним относятся гены *RHD6*, *AXR2*, *AXR3*, *KEU*, *CPC*, *RHL1*, *TRN1*, *TRN2*, *SHV1*, *SHV2*, *SHV3*, *RHD2*, *TRH1*, *KIK*, *TIP1*, *AUX1*, *AXR1*, *AXR2*, *ETR1*, *LRX1*, *EIN2*, *RHD1*, *RHD3*, *RHD4*, *BST1*, *COW1*, *CEN1*, *CEN2*, *CEN3*, *SCN1* и *SAR1*. Ко второй группе относятся гены, подавляющие образование выростов клеток эпиблемы. Такими генами являются *GL2*, *TTG*, *WER*, *ERH1*, *CTR1*, *ETO1*, *PHYA*, *PHYB* и *PFN1*.

Это и понятно, если обратить внимание на то, что в корневой системе растений арабидопсиса в поглощающей зоне корней происходит морфологическое

Таблица 1

Средние значения параметров корневых волосков у растений мутантных линий на 10 день после прорастания семян

Название линии	Корневые волоски			
	длина, мкм	диаметр в основании, мкм	диаметр в средней части, мкм	количество, шт/1мм <sup>2</sup>
WT (Col-O)	997,8	21,3	9,8	51,4
<i>rhd6-1</i>	432,9	17,3	9,1	1,6
<i>axr2-1/iaa7</i>	553,2	19,2	9,8	1,5
<i>axr3-1/iaa17</i>	414,1	16,8	8,8	1,1
<i>keu-1</i>	651,7	21,5	16,3	1,9
<i>cpc-1</i>	641,0	18,8	8,4	1,1
<i>rhl1-1</i>	559,6	19,6	8,8	1,8
<i>trn1-1</i>	403,7	17,2	6,9	1,7
<i>trn2-1</i>	407,1	17,3	7,8	1,2
<i>kjk3-1</i>	34,7	21,6	9,8	30,6
<i>shv1-1</i>	10,8	21,9	10,4	34,4
<i>shv2-1</i>	15,1	21,3	9,8	38,2
<i>rhd2-1</i>	11,0	21,9	9,0	38,3
<i>trh1-1</i>	13,0	21,4	10,0	30,7
<i>axr-1</i>	110,7	21,6	10,1	42,7
<i>etr1-1</i>	116,3	21,8	10,1	41,3
<i>ein2-1</i>	102,3	21,2	9,8	42,0
<i>aux1-7</i>	119,7	21,5	10,5	40,1
<i>rhd1-1</i>	701,6	40,6	10,2	35,3
<i>rhd3-1</i>	628,4	10,4	9,6	34,1
<i>rhd4-1</i>	747,3	21,8	6,4	40,8
<i>bst1-1</i>	600,6	21,7	10,0	36,6
<i>cow1-1</i>	738,4	22,5	15,8	34,4
<i>cen1-1</i>	648,4	21,8	15,1	35,3
<i>cen2-1</i>	578,4	21,9	15,4	40,3
<i>cen3-1</i>	658,9	21,9	15,2	41,4
<i>scn1-1</i>	701,3	21,8	15,4	41,3
<i>sar-1</i>	677,3	21,6	9,6	35,3
<i>lrx-1</i>	730,0	21,6	14,8	42,0
<i>tip1-1</i>	507,3	25,6	20,4	37,6
<i>gl-2</i>	1000,3	21,8	9,9	80,4
<i>ttg-1</i>	1000,3	21,2	9,5	84,8
<i>wer-1</i>	1000,7	21,3	9,8	100,3
<i>erh1-1</i>	999,0	21,5	9,6	75,7
<i>ctr1-2</i>	1479,2	21,1	9,2	90,2
<i>eto1-1</i>	1458,8	21,3	9,4	83,8
<i>phyA</i>	1497,7	21,5	9,8	91,5
<i>phyB</i>	1491,2	21,7	9,7	84,1
<i>pfn1-1</i>	1409,1	21,3	9,6	73,4
HCP <sub>0,95</sub> , мкм	82,37	3,32	1,68	1,71

разделение поверхностной ткани на клетки, формирующие волоски, и клетки, которые их не образуют.

В соответствии с характером выполняемых функций данных генов их на молекулярном уровне можно условно поделить на четыре группы. К первой группе относятся гены, участвующие в метаболизме и транспорте гормона. Это гены *AUX1* и *ETO1*.

Ген *AUX1* кодирует мембранный белок-транспортер, который переносит ауксин, образуемый преимущественно в апикальной меристеме побега, в основном вниз по стеблю к конусу нарастания корня и к клеткам зон растяжения и всасывания [6]. Ген *ETO1* контролирует ингибитор активности фермента биосинтеза этилена АЦК-синтазы [7].

Во вторую группу входят гены, контролирующие восприятие и передачу гормонального сигнала. К данной группе относятся гены *AXR1*, *ETR1*, *EIN2*, *CTR1*, *PHYA*, *PHYB*, *RHD3*, *BST1*, *SHV3*, *RHD4* и *COW1*.

Ген *ETR1* кодирует мембранный рецептор ETR1, входящий в состав семейства белков-рецепторов этиленового сигнала [8]. Этот рецептор является сенсорной гистидинкиназой, сходной с рецепторами цитокининов АНК-семейства (АНК2, АНК3 и АНК4) и фоторецепторов (фитохромы – PHYA–E, криптохромы – CHY1, CHY2 и фототропины – PHOT1, PHOT2) [9].

Передача этиленового сигнала от рецепторных гистидинкиназ на протеинкиназу и далее через MAP-киназный каскад к ядру клетки может блокироваться белком CTR1, контролируемым геном *CTR1*. Данный белок является репрессором передачи гормонального сигнала, который образует комплекс из сенсорными гистидинкиназами [10].

На мембране ядра клетки сигнал от вторичных посредников воспринимается ядерным мембранным белком EIN2, который кодируется геном *EIN2*. Он передает его к транскрипционным факторам. Передаваемый сигнал непосредственно взаимодействует с промоторной областью ДНК и при участии фактора регуляции транскрипции вызывает экспрессию генов [11].

Одним из уникальных молекулярных механизмов передачи сигналов, генерируемых ауксином, является регуляция им рецепторных комплексов, которые контролируют процесс модификации остатками убиквитина факторов транскрипции [12]. Ген *AXR1* контролирует убиквитин-активирующий фермент ( $E_1$ ), который является одним из 3 компонентов убиквитин-протеин лигазного комплекса [13].

Важным фактором окружающей среды, регулирующим у растений арабидопсиса большинство процессов роста и развития, а также образование корневого волоска является свет. Гены *PHYA* и *PHYB* кодируют фоторецепторы PHYA и PHYB, которые являются светочувствительными образованиями, способные в ответ на поглощение квантов света молекулами содержащихся в них пигментов генерировать рецепторный сигнал [14].

У растений и животных в путь передачи фитогормонального сигнала от рецепторов на внутриклеточные эффекторные системы вовлечены небольшие ГТФ-связывающие белки. Ген *RHD3* кодирует одну из  $\alpha$ -субъединиц ГТФ-связывающих белков, являющихся универсальными посредниками при передаче гормональных

сигналов от рецепторов клеточной мембраны к эффекторным белкам, вызывающим конечный клеточный ответ [15].

В клетках позвоночных животных, человека и растений интегральную роль в передаче сигналов в геном выполняют также каскады протеинкиназ. Ген *SHV3* (*MRH5*) кодирует киназу – фермент, катализирующий перенос фосфатной группы от молекулы аденозинтрифосфата на различные субстраты [16].

Гены *BST1*, *RHD4* и *COW1* контролируют минорные фосфолипиды внутреннего слоя мембран эукариотических клеток, принадлежащие к ферментам класса гидролаз. Продукты этих генов являются важными компонентами внутриклеточных сигнальных путей [17].

К третьей группе относятся гены первичного ответа на гормон. Такими генами являются *WER1*, *TTG1*, *GL2*, *CPC1*, *RHD6*, *AXR2* и *AXR3*. Эти гены кодируют транскрипционные факторы, которые запускают или подавляют процесс развития коревого волоска. Они контролируют активность большого числа других генов, участвующих в образовании волосков эпиблемы.

Роль генов *WER1*, *TTG1* и *GL2* заключается в подавлении формирования корневого воска. Гены *WER1* и *TTG1* кодируют белки-регуляторы, принадлежащие к самому многочисленному типу транскрипционных факторов растений MYB-белкам [18]. Ген *GL2* контролирует транскрипционный фактор, содержащий ДНК-связывающий домен, имеющий последовательность из 60 аминокислотных остатков, которую называют гомеодоменом [19].

Гены *AXR2*, *AXR3*, *CPC1* и *RHD6*, наоборот, инициируют процесс образования волосков эпиблемы. Гены *AXR2* и *AXR3* кодируют транскрипционные факторы IAA7, IAA17, принадлежащие к семейству регуляторных белков Aux/IAA, контролирующих экспрессию генов вторичного ответа на ауксин [6]. Продуктом гена *CPC1* является фактор транскрипции, относящийся также к семейству MYB-белков [20]. Ген *RHD6* контролирует фактор транскрипции с основным доменом типа спираль-петля-спираль [21].

В четвертую группу объединены гены вторичного ответа на гормон. К ним относятся гены *RHL1*, *RHL2*, *RHL3*, *TRN1*, *TRN2*, *KEU1*, *SAR1*, *KJK1*, *RHD1*, *RHD2*, *SHV1*, *SHV2*, *LRX1*, *TRH1*, *ERH1*, *ERH2*, *ERH3*, *PFN1* и *TIP1*.

Как известно, снаружи корневые волоски покрыты тонкостенными целлюлозопектиновыми клеточными оболочками. Непосредственно под клеточной оболочкой находится наружная цитоплазматическая мембрана. На плазмалемме и в клеточной стенке наиболее продуктивно работают многочисленные ферменты и ферментные системы. Их скопление на наружной цитоплазматической мембране и в клеточной оболочке ускоряет реакции, обеспечивает одновременное прохождение разных процессов, а также вызывает расщепление полисахаридов клеточной стенки.

В период роста клеток растяжением активируются многочисленные ферменты, участвующие в расщеплении полисахаридов первичной однослойной клеточной стенки. К ним относятся: пероксидазы, фосфатазы, инвертазы,  $\alpha$ - и  $\beta$ -маннозидазы,  $\beta$ -1,3-глюканазы,  $\beta$ -1,4-глюканазы, декстраназы ( $\beta$ -1,6-D-глюкан-6-глюканогидролазы) и ксилоглюканэндотрансгликозилазы (XET), пектиновые экзо- и эндополигалактуроназы, пектинлиазы и метилэстеразы, малатдегидрогеназы,

арабинозидазы,  $\alpha$ - и  $\beta$ -галактозидазы,  $\beta$ -глю-куронозидазы,  $\beta$ -ксилозидазы, протеазы и оксидаза аскорбиновой кислоты [22].

Одной из таких ферментных систем является клеточный мембрано-связанный мультимолекулярный ферментный комплекс НАДФН-оксидаза (NADPH oxidase, или Rboh), локализующийся на плазматической мембране и в некоторых органелах [23]. Он состоит из шести гетерогенных субъединиц: двух мембраносвязанных ( $gp91^{phox}$  и  $p22^{phox}$ ) и четырех цитозольных ( $p47^{phox}$ ,  $p40^{phox}$ ,  $p67^{phox}$  и Rac1 или Rac2) [24].

Ген *RHD2* (*AtRBOHC*) кодирует мембраносвязанную  $\beta$ -субъединицу  $gp91^{phox}$  ферментного комплекса Rboh [25]. В настоящее время благодаря использованию мутантов по генам *AtRBOH* получены весомерные доказательства того, что функцией Rboh является производство активных форм кислорода (АФК), которые вовлечены в защитные реакции растений, биосинтез гормонов, клеточную сигнальную трансдукцию и другие процессы, в том числе в расщепление полисахаридных компонентов клеточной стенки в период роста клеток растяжением [26].

Интересно подчеркнуть, что участие мультикомпонентного ферментного комплекса НАДФН-оксидаза в разрыхлении клеточной стенки в результате разрыва связей между входящими в ее состав молекулами позволяет объяснить хорошо и давно известные факты того, что для появления корневых волосков на корнях необходимы ионы  $Ca^{2+}$  и кислород. Ионы  $Ca^{2+}$  считаются основным регулятором активности НАДФН-оксидазы, а кислород является универсальным акцептором электронов при образования АФК. При недостатке или в отсутствии аэрации в почве на корнях волоски эпиблемы не образуются.

Общезвестно, что для того чтобы происходило растяжение клеток под действием осмотических сил, нужно поглощение воды вакуолью. Поступление воды в вакуоль зависит от усиленного выхода ионов  $H^+$  из цитоплазмы через плазмалемму и поступление ионов  $K^+$  в клетку [27]. Перенос ионов  $H^+$  из цитоплазмы в свободное пространство клеточной стенки осуществляется  $H^+$ -помпой, а поступление ионов  $K^+$  в клетку и затем в вакуоль –  $Na^+$ ,  $K^+$ – насосом.

Ген *TRHI* контролирует белок-переносчик ионов калия и натрия, пронизывающий всю толщу мембраны, который постоянно накачивает ионы калия внутрь клетки, одновременно выкачивая из нее ионы натрия; при этом перемещение обоих ионов происходит против градиентов их концентраций [28].

Оболочка корневого волоска является продуктом жизнедеятельности цитоплазмы клетки эпиблемы. Одним из обязательных компонентов цитоплазмы являются микрофиламенты. В состав микрофиламентов входит в основном белок актин. Он кодируется геном *PFNI*. Актин – глобулярный белок, который составляет 5–15 % всего клеточного белка [29].

Чтобы понять, как происходит образование стенок корневых волосков необходимо знать особенности их строения. Клеточные оболочки волосков эпиблемы имеют «первичное» строение. Они довольно эластичны и способны расти путем растяжения в течение всей их жизни. В состав стенок корневых волосков входят целлюлоза и вещества матрикса (гемицеллюлозы, пектины и белки).

Согласно полученным на протяжении последних лет данным, у арабидопсиса в стенках выростов клеток эпиблемы обнаружено пять основных классов белков. К ним относятся гидроксипролин-обогащенные гликопротеины (HRGPs) – экстенсины и экспансины, глицин-обогащенные белки (GRPs), пролин-обогащенные белки (PRPs), лектины и арабиногалактановые белки [30].

Ген *LRX1* кодирует белок экстенсин, входящий в состав клеточных оболочек корневых волосков, который участвует в организации их углеводного каркаса. Ген *SHV2* контролирует белок лектин, обладающий способностью высокоспецифично связывать остатки углеводов на поверхности клеток, в частности, вызывая их агглютинацию [31].

Известно, что в формировании оболочек корневых волосков берут участие комплекс Гольджи, эндоплазматическая сеть и плазматическая мембрана. Гемиллюлоза и пектиновые вещества синтезируются в аппарате Гольджи, полипептидные цепи белков образуются на эндоплазматическом ретикулуме, а молекулы целлюлозы собираются розеточными терминальными комплексами в цитоплазматической мембране. В аппарате Гольджи материал для построения клеточной стенки (гемиллюлозы, пектины и структурные белки) упаковываются в внутриклеточные везикулы и транспортируются к плазмалемме.

Обычно транспортировка везикул с компонентами матрикса от места синтеза и формирования (аппарат Гольджи) до плазматической мембраны осуществляется моторными белками вдоль актиновых филаментов и микротрубочек цитоскелета. Ген *KEUI* контролирует белок SEC1, участвующий в координации и регуляции транспорта везикул, выполняющих функцию переносчиков молекул и частиц от одного компартмента клетки к другому [32].

При достижении наружной цитоплазматической мембраны секреторные везикулы входят в контакт с ее белками и сливаются. Ген *SARI* кодирует синаптобревин – белок, связанный с везикулой и предназначенный для образования комплекса везикула + плазмалемма [33]. Путем экзоцитоза строительный материал (гемиллюлозы, пектиновые вещества и белки) выделяются через плазмалемму в просвет между ней и клеточной стенкой по всей поверхности корневого волосков, для построения которой они используются.

Основным соединением оболочек волосков эпиблемы является целлюлоза. Молекулы целлюлозы синтезируются специальными структурами, встроенными в плазмалемму. У растений ими являются розеточные терминальные комплексы. Благодаря ферментной активности розеточных терминальных комплексов в наружной цитоплазматической мембране происходит сборка целлюлозных волокон [34].

Синтез целлюлозы изучен слабо. Простота химической структуры целлюлозы противоречит сложностям, которые связаны с ее биосинтезом и сборкой. В настоящее время все еще недостаточно известно о механизмах и регуляции биохимических стадий синтеза полисахаридов клеточной стенки, а также о взаимодействии компонентов, обеспечивающих клетку функционально активной оболочкой [35].

Основным ферментом биосинтеза целлюлозы является целлюлозосинтаза (Ces). Изучение активности этого фермента сопряжено с большими трудностями,

одна из которых заключается в выделении функционально активной целлюлозосинтазы [36].

Основываясь на современном представлении синтеза целлюлозы, UDP-глюкоза используется для связывания активной зоны ферментного комплекса на цитоплазматической поверхности плазматической мембраны с полисахаридом, который продавливается через мембрану, предположительно через структуру пор, вовнутрь клеточной стенки. Ген *RHD1* кодирует фермент UDP-D-глюкоза-4-эпимераза, который принимает участие в синтезе UDP-D-галактозы, входящей в состав полисахаридов клеточной стенки [37].

На протяжении нескольких последних лет с помощью функционального геномного анализа идентифицированы и охарактеризованы гены ферментов, участвующих в биосинтезе полисахаридов гемицеллюлозного матрикса клеточной стенки, прочно переплетающих целлюлозные микрофибриллы. К ним относятся члены семейства генов ферментов, вовлеченных в биосинтез ксилоглюканов; семейство CSL генов, кодирующих ксилоглюкансинтазу, участвующую в биосинтезе компонентов гемицеллюлозного матрикса; гены фермента ксилансинтазы, ответственной за биосинтез GAX полисахаридов, а также гены фермента глюкансинтазы, катализирующей биосинтез  $\beta$ -1,4-глюканов [38].

Ген *KJK1* кодирует фермент целлюлозосинтаза AtCSLD3, участвующий в синтезе нецеллюлозных полисахаридов матрикса (гемицеллюлоз, пектинов), которые склеивают мицеллярные структуры оболочки клетки [39]. Ген *ERH2* контролирует гидролитический фермент хитиназа, катализирующий деградацию хитина. У арабидопсиса ген *ERH2* принимает участие в синтезе целлюлозы, входящей в состав первичной и вторичной клеточной стенки [40].

Важная роль в отложении микрофибрилл в клеточной стене корневого волоска принадлежит микротрубочкам, располагающимся под плазмалеммой параллельно формирующимся фибриллам. Ген *ERH3* контролирует белок катанин р60, названный в честь японского меча катана. Он принимает участие в разрыве микротрубочек [41].

Практически любой процесс, связанный с передачей или реализацией наследственной информации, приводит к появлению положительной и отрицательной сверхспирализации ДНК, образованию «закрученных» молекул – катенанов и узлов. Все эти топологические проблемы, появляющиеся в процессах репликации, транскрипции и рекомбинации успешно решаются особыми ферментами – ДНК-топоизомеразами. Все ДНК-топоизомеразы разделяют на два типа: I и II. Гены *RHL1*, *RHL2* и *RHL3* кодируют ДНК-топоизомеразы типа II, являющиеся ключевыми ферментами, которые изменяют и регулируют топологическое состояние ДНК [42].

Таким образом, приведенные здесь результаты исследований позволили нам разработать новую теорию роста клеток растяжением, которая объясняет механизм, посредством которого гормоны стимулируют элонгацию клеток. Эту теорию мы назвали теорией «ферментативного роста» клеток растяжением.

Согласно данной теории, первичное действие ауксинов обусловлено не закислением матрикса клеточной стенки, а их взаимодействием с рецепторами и



образованием гормон-рецепторного комплекса, который проникает в ядро клетки и оказывает влияние на активность генов, что вызывает биосинтез ферментов, определяющих разрыхление клеточной стенки, приводит к синтезу микрофибрилл целлюлозы и веществ матрикса, переносу данного материала через плазматическую мембрану и включение его в клеточную стенку.

В пользу теории «ферментативного роста» клеток растяжением говорит многое. Наиболее важными аргументами являются следующие. Во-первых, результатами многочисленных исследований с использованием новых методов электрогенеза растений показано [2; 3], что ауксины, в целом, не индуцируют прямо процесс растяжения клеток путем активации транспорта протонов и их выхода из цитоплазмы в свободное пространство клеточных стенок, отчего кинетика секреции протонов обычно не совпадает с кинетикой роста клеток растяжением. При этом, часто снижение величины рН не вызывает разрыхление клеточных оболочек и растяжения клеток. В результате растущая за экзогенным действием ауксина секреция протонов, которая происходит при участии  $H^+$ -АТФазы или редокс-системы (НАДФН-оксидаза) плазмалеммы, не играет главную роль в росте клеток растяжением.

Во-вторых, в последние годы значительные успехи достигнуты генетиками и физиологами в изучении путей биосинтеза фитогормонов и механизма их действия на молекулярном уровне. К настоящему времени у растений определены ключевые гены биосинтеза некоторых классов фитогормонов, найдены отдельные гены, кодирующие их рецепторы, открыты транскрипционные факторы, участвующие в контроле многих важных процессов, частично изучены пути передачи сигналов от фитогормонов по цепи: рецепторы – вторичные мессенджеры – специфические гены.

В-третьих, в настоящее время у растений установлен широкий ряд ферментов, участвующих в расщеплении полисахаридных компонентов гемицеллюлозного матрикса первичной клеточной стенки в период роста клеток растяжением [22]. На основании многочисленных данных, биохимических анализов на растениях обнаружено, что ферменты, разрыхляющие полисахариды клеточной стенки, проявляют специфическую активность по отношению к разным видам полисахаридов [38].

## ВЫВОДЫ

1. У *A. thaliana* образование корневых волосков происходит по гормон-регулируемой комплексной эндогенной программе развития.

2. Первичное действие ауксинов обусловлено не подкислением клеточной стенки, а активацией рецепторов в плазмалемме клеток, что приводит к изменению генной активности и синтезу ферментов, вызывающих разрыхление оболочки клетки.

## Список литературы

1. Rayle D. L. The Acid Growth Theory of auxin-induced cell elongation is alive and well / D. L. Rayle, R. E. Cleland // Plant Physiol. – 1992. – Vol. 99, N 1. – P. 1271–1274.
2. Luthen H. Reexamination of the Acid Growth Theory of Auxin Action1 / H. Luthen, M. Bigdon, M. Bottger // Plant Physiol. – 1990. – Vol. 93, N 1. – P. 931–939.

3. Kutschera U. Evidence against the acidgrowth theory of auxin action / U. Kutschera, P. Schopfer // *Planta*. – 1985. – Vol. 163, N 4. – P. 483–493.
4. Большой практикум по физиологии растений: Учебн. пособие для студентов биол. спец. вузов / [Б. А. Рубина, И. А. Чернавина, Н. Г. Потапов и др.]. – М.: Высшая школа, 1978. – 408 с.
5. Доспехов Б. А. Методика (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
6. Belin C. Abscisic acid represses growth of the *Arabidopsis* embryonic axis after germination by enhancing auxin signaling / C. Belin, C. Megies, E. Hauserova, L. Lopez-Molina // *Plant Cell*. – 2009. – Vol. 21, N 1. – P. 2253–2268.
7. Christians M. J. The BTB ubiquitin ligases ETO1, EOL1 and EOL2 act collectively to regulate ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* by controlling type-2 ACC synthase levels / M. J. Christians, D. J. Gingerich, M. Hansen, B. M. Binder, J. J. Kieber, R. D. Vierstra // *Plant J*. – 2009. – Vol. 57, N 2. – P. 332–345.
8. Patterson S. E. Ethylene-dependent and -independent processes associated with floral organ abscission in *Arabidopsis* / S. E. Patterson, A. B. Bleecker // *Plant Physiol*. – 2004. – Vol. 134, N 1. – P. 194–203.
9. Scharein B. Ethylene signaling: identification of a putative ETR1-AHP1 phosphorelay complex by fluorescence spectroscopy / B. Scharein, J. Voet-van-Vormizeele, K. Harter, G. Groth // *Anal Biochem*. – 2008. – Vol. 377, N 1. – P. 72–76.
10. Gao Z. Localization of the Raf-like kinase CTR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis* through participation in ethylene receptor signaling complexes / Z. Gao, Y. F. Chen, M. D. Randlett, X. C. Zhao, J. L. Findell, J. J. Kieber, G. E. Schaller // *J Biol Chem*. – 2003. – Vol. 278, N 3. – P. 34725–34732.
11. Etheridge N. Dissecting the ethylene pathway of *Arabidopsis* / N. Etheridge, Y. F. Chen, G. E. Schaller // *Brief Funct Genomic Proteomic*. – 2005. – Vol. 4, N 2. – P. 372–381.
12. Bishopp A. Sings of change: hormone receptors that regulate plant development / A. Bishopp, A. P. Mahonen, Y. Helariutta // *Development*. – 2006. – Vol. 133, N 3. – P. 1857–1869.
13. Pozo J. C. The ubiquitin-related protein RUB1 and auxin response in *Arabidopsis* / J. C. Pozo, C. Timpte, S. Tan, J. Callis, M. Estelle // *Science*. – 1998. – Vol. 280, N 1. – P. 1760–1763.
14. Shen Y. Phytochrome A mediates rapid red light-induced phosphorylation of *Arabidopsis* FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL1 in a low fluence response / Y. Shen, Z. Zhou, S. Feng, J. Li, A. Tan-Wilson, L. J. Qu, H. Wang, X. W. Deng // *Plant Cell*. – 2009. – Vol. 21, N 2. – P. 494–506.
15. Wang H. Regulation of the cell expansion gene RHD3 during *Arabidopsis* development / H. Wang, M. M. Lee, J. W. Schiefelbein // *Plant Physiol*. – 2002. – Vol. 129, N 2. – P. 638–649.
16. Hayashi S. The glycerophosphoryl diester phosphodiesterase-like proteins SHV3 and its homologs play important roles in cell wall organization / S. Hayashi, T. Ishii, T. Matsunaga, R. Tominaga, T. Kuromori, T. Wada, K. Shinozaki, T. Hirayama // *Plant Cell Physiol*. – 2008. – Vol. 49, N 1. – P. 1522–1535.
17. Parker J. S. Genetic interactions during root hair morphogenesis in *Arabidopsis* / J. S. Parker, A. C. Cavell, L. Dolan, K. Roberts, C. S. Grierson // *Plant Cell*. – 2000. – Vol. 12, N 2. – P. 1961–1974.
18. Tominaga R. Functional analysis of the epidermal-specific MYB genes CAPRICE and WEREWOLF in *Arabidopsis* / R. Tominaga, M. Iwata, K. Okada, T. Wada // *Plant Cell*. – 2007. – Vol. 19, N 1. – P. 2264–2277.
19. Rerie W. G. The GLABRA2 gene encodes a homeo domain protein required for normal trichome development in *Arabidopsis* / W. G. Rerie, K. A. Feldmann, M. D. Marks // *Genes Dev*. – 1994. – Vol. 8, N 1. – P. 1388–1399.
20. Koshino-Kimura Y. Regulation of CAPRICE transcription by MYB proteins for root epidermis differentiation in *Arabidopsis* / Y. Koshino-Kimura, T. Wada, T. Tachibana, R. Tsugeki, S. Ishiguro, K. Okada // *Plant Cell Physiol*. – 2005. – Vol. 46, N 2. – P. 817–826.
21. Heim M. A. The basic helix-loop-helix transcription factor family in plants: a genome-wide study of protein structure and functional diversity / M. A. Heim, M. Jakoby, M. Werber, C. Martin, B. Weisshaar, P. C. Bailey // *Molecular Biol. Evol*. – 2003. – Vol. 20, N 1. – P. 735–747.
22. Heyn A. N. J. Molecular basis of auxin-regulated extension growth and role of dextranase / A. N. J. Heyn // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1981. – Vol. 78, N 1. – P. 6608–6612.
23. Foreman J. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth / J. Foreman, V. Demidchik, J. H. Bothwell, P. Mylona, H. Miedema, M. A. Torres, P. Linstead, S. Costa, C. Brownlee, J. D. Jones, J. M. Davies, L. Dolan // *Nature*. – 2003. – Vol. 422, N 1. – P. 442–446.

24. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К. Свойства и функции НАДФН-оксидаз клеток млекопитающих // Успехи соврем. биологии. – 2006. – Т. 126, № 1. – С. 97–112.
25. Torres M. A. *Arabidopsis* gp91phox homologues AtrbohD and AtrbohF are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response / M. A. Torres, J. L. Dangl, J. D. G. Jones // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99. – P. 517–522.
26. Глянько А. К. НАДФН-оксидаза растений / А. К. Глянько, А. А. Ищенко, Н. Б. Митанова, Г. Г. Васильева // Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер. «Біологія». – 2009. – Вип. 2. – С. 6–18.
27. Полевой В. В. Физиология растений: учеб. для биол. спец. вузов / В. В. Полевой. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
28. Rigas S. TRH1 encodes a potassium transporter required for tip growth in *Arabidopsis* root hairs / S. Rigas, G. Debrosses, K. Haralampidis, F. Vicente-Agullo, K. A. Feldmann, A. Grabov, L. Dolan, P. Hatzopoulos // Plant Cell. – 2001. – Vol. 13, N 1. – P. 139–151.
29. McKinney E. C. Small changes in the regulation of one *Arabidopsis* profilin isoform, PRF1, alter seedling development / E. C. McKinney, M. K. Kandasamy, R. B. Meagher // Plant Cell. – 2001. – Vol. 13, N 2 – P. 1179–1191.
30. Showalter A. M. Structure and function of plant cell wall proteins / A. M. Showalter // Plant Cell. – 1993. – Vol. 5, N 1. – P. 9–23.
31. Jones M. A. Analysis of the root-hair morphogenesis transcriptome reveals the molecular identity of six genes with roles in root-hair development in *Arabidopsis* / M. A. Jones, M. J. Raymond, N. Smirnov // Plant J. – 2006. – Vol. 45, N 2. – P. 83–100.
32. Waizenegger I. The *Arabidopsis* KNOLLE and KEULE genes interact to promote vesicle fusion during cytokinesis / I. Waizenegger, W. Lukowitz, F. Assaad, H. Schwarz, G. Jurgens, U. Mayer // Curr Biol. – 2000. – Vol. 10, N 2. – P. 1371–1374.
33. Sparkes I. A. AtPEX2 and AtPEX10 are targeted to peroxisomes independently of known endoplasmic reticulum trafficking routes / I. A. Sparkes, C. Hawes, A. Baker // Plant Physiol. – 2005. – Vol. 139, N 2. – P. 690–700.
34. Kimura S. Immunogold labeling of rosette terminal cellulose synthesizing complexes in the vascular plant *Vigna angularis* / S. Kimura // Plant Cell. – 1999. – Vol. 11, N 2. – P. 2075–2085.
35. Титок В. В. Биосинтез целлюлозы: современный взгляд и концепции / В. В. Титок, В. Н. Леонтьев, И. В. Федоренко, С. В. Кубрак, С. И. Юренкова, З. Е. Грушецкая // Труды Белорусского государственного университета. – 2007. – Т. 2, № 1. – С. 54–56.
36. Pear J. Higher plants contain homologs of the bacterial CelA genes encoding the catalytic subunit of the cellulose synthase / J. Pear // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1996. – Vol. 93, N 1. – P. 12637–12642.
37. Seifert G. J. Galactose biosynthesis in *Arabidopsis*: genetic evidence for substrate channeling from UDP-D-galactose into cell wall polymers / G. J. Seifert, C. Barber, B. Wells, L. Dolan, K. Roberts // Curr Biol. – 2002. – Vol. 12, N 1. – P. 1840–1845.
38. Циганкова В. А. Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Гены биосинтеза ауксинов и ауксин-регулируемые гены, контролирующие деление и растяжение клеток растений / В. А. Циганкова, Л. А. Галкина, Л. И. Мусатенко, К. М. Сытник // Биополимеры и клетка. – 2005. – Т. 21, № 2. – С. 107–133.
39. Favery B. KOJAK encodes a cellulose synthase-like protein required for root hair cell morphogenesis in *Arabidopsis* / B. Favery, E. Ryan, J. Foreman, P. Linstead, K. Boudonck, M. Steer, P. Shaw, L. Dolan // Genes Dev. – 2001. – Vol. 15, N 1. – P. 79–89.
40. Zhong R. Mutation of a chitinase-like gene causes ectopic deposition of lignin, aberrant cell shapes, and overproduction of ethylene / R. Zhong, S. J. Kays, B. P. Schroeder, Z. H. Ye // Plant Cell. – 2002. – Vol. 14, N 1 – P. 165–179.
41. Stoppin-Mellet V. Functional evidence for in vitro microtubule severing by the plant katanin homologue / V. Stoppin-Mellet, J. Gaillard, M. Vantard // Biochem J. – 2002. – Vol. 365, N 2. – P. 337–342.
42. Sugimoto-Shirasu K. RHL1 is an essential component of the plant DNA topoisomerase VI complex and is required for ploidy-dependent cell growth / K. Sugimoto-Shirasu, G. R. Roberts, N. J. Stacey, M. C. McCann, A. Maxwell, K. Roberts // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2005. – Vol. 102, N 2. – P. 18736–18741.

**Хаблак С. Г., Абдуллаєва Я. А. Теорія ферментативного росту клітин розтягненням //** Екосистеми, їх оптимізація та охорона. Сімферополь: ТНУ, 2013. Вип. 9. С. 185–196.

Викладена нова теорія росту клітин розтягненням, яка пояснює механізм, за допомогою якого гормони стимулюють елонгацію клітин. Показано, що первинна дія ауксинів обумовлена не підкисленням клітинної стінки, а активацією рецепторів в плазмалемі клітин, що призводить до зміни генної активності і синтезу ферментів, що викликають розпушення оболонки клітини.

*Ключові слова:* теорія, ріст, клітка, фермент, ауксин, ген, рецептор.

**Hablak S. G., Abdullaeva J. A. Theory of enzymatic cell growth by sprains //** Optimization and Protection of Ecosystems. Simferopol: TNU, 2013. Iss. 9. P. 185–196.

A new theory of cell growth by stretching, which explains the mechanism by which hormones stimulate cell elongation is presented. It is shown that the primary effect of auxin is not due to acidification of the cell wall, and the activation of receptors in the plasma membrane of cells, leading to changes in gene activity and the synthesis of enzymes that cause cell wall loosening.

*Key words:* theory, growth, cell, enzyme, auxin, gene, receptor.

*Поступила в редакцію 22.10.2012 г.*