

АКТИВНОСТЬ И СОСТАВ ЛЕКТИНОВ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР И ИНГИБИТОРОВ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

© 2010 г. О. А. Тимофеева, Ю. Ю. Невмержицкая, М. А. Московкина

Биолого-почвенный факультет Казанского государственного университета, Казань

Поступила в редакцию 24.02.2009 г.

В клетках корней проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Мироновская 808 исследовано действие ингибитора фосфолипазы С – неомицина (100 мкМ) и блокатора кальциевых каналов – дилтиазема (250 мкМ) на активность и состав лектинов при низкотемпературном воздействии (2–3°C). Гипотермия индуцировала появление двух пиков активности лектинов клеточной стенки – через 0.5 и 6 ч. Показано, что ингибиторы в этих условиях подавляли активность лектинов. Через 0.5 ч гипотермии наблюдали значительные изменения общего профиля элюции белков, заключавшиеся в исчезновении лектинов с мол. м. 85, 78 и 54 кД и появлении новых лектинов с мол. м. 110, 105, 70, 50 и 34.5 кД. В этих условиях на фоне дилтиазема спектр лектиновых белков оставался таким же, как у незакаленных растений, и только через 3 ч действия низких температур было выявлено увеличение количества лектинов и повышение их активности. При этом профиль элюции незначительно отличался от контрольного варианта. Полученные данные свидетельствуют о том, что блокирование дилтиазем-чувствительных кальциевых каналов замедляет ответную реакцию организма на стрессовое воздействие и не позволяет клетке сразу же начать формирование защитных механизмов. Предполагается важная роль лектинов 110 кД и 60 кД в формировании морозоустойчивости, поскольку на фоне дилтиазема не происходило их появления.

Ключевые слова: Triticum aestivum – клеточная стенка – лектины – кальциевая сигнальная система – арабиногалактановые белки – низкотемпературное закаливание

ВВЕДЕНИЕ

Лектины относятся к группе белков (гликопротеинов), характерной особенностью которых является способность специфически и обратимо связывать углеводные лиганды. Они присущи всем живым организмам, поэтому изучение функций лектинов, которые для большинства из них остаются дискуссионными, имеет общебиологическое значение и привлекает пристальное внимание исследователей [1, 2]. Имеющиеся данные литературы свидетельствуют о важной роли связанных с клеточной стенкой лектинов в восприятии и передаче внешнего сигнала в различные компартменты клетки [3]. Особое значение при этом отводят арабиногалактановым белкам (АГБ) клеточной поверхности, которые могут быть как адгезивными, так и сигнальными молекулами. Предполагается, что АГБ с участием либо

мембранных липидов [4, 5], либо трансмембранных белков, таких как киназы, ассоциированные с клеточной стенкой (WAKs), формины, целлюлозосинтаза, фосфолипаза Д, эндо-1,4-глюканаза [4, 5], рецепторные киназы, связанные с лектинами клеточных стенок [6], каллозосинтаза, и миозины [7] передают сигнал от клеточной стенки к цитоскелету в цитоплазме.

В наших работах была выявлена зависимость активности лектинов клеточной стенки от структурного состояния цитоскелета, в связи с чем мы высказали предположение об участии лектинов в континууме клеточная стенка–плазмалемма–цитоскелет [8]. Позднее в клеточной стенке обнаружили 4 группы лектинов: 1) лектины, агглютинирующие эритроциты, неспецифичные к глюкозе и не являющиеся АГБ; 2) лектины, агглютинирующие эритроциты, специфичные к глюкозе и не являющиеся АГБ; 3) так называемые β-лектины, которые не агглютинируют эритроциты, связываются только с глюкозой и являются АГБ; 4) лектины, агглютинирующие эритроциты, неспецифичные к глюкозе и являющиеся АГБ [9]. Эти данные свидетельствуют о важной структурной и сигнальной роли лектинов клеточной поверхности. Вместе с тем, практически ничего не извест-

Сокращения: АГБ – арабиногалактановые белки; АЗП – агглютинин зародыша пшеницы; ФМСФ – фенилметилсульфонилфторид.

Адрес для корреспонденции: Тимофеева Ольга Арнольдовна. 420008 Казань, Кремлевская ул., 18. Казанский государственный университет, биолого-почвенный факультет, кафедра физиологии и биотехнологии растений. Факс: 007 (843) 238-71-21; электронная почта: Olga.Timofeeva@ksu.ru

но о механизмах регуляции их активности в неблагоприятных условиях внешней среды.

Было обнаружено несколько фаз изменения активности лектинов клеточной стенки в процессе низкотемпературного закаливания проростков озимой пшеницы [9]. Мы предположили, что второй пик активности, характерный для фазы адаптации, может быть обусловлен динамическими перестройками цитоскелета. Что касается увеличения активности лектинов в первые минуты действия гипотермии, то, возможно, это связано с функционированием сигнальных систем клетки.

В связи с этим целью работы было выяснение роли кальциевой сигнальной системы в регуляции активности и состава лектинов клеточной стенки в первые часы действия низкотемпературного стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили корни проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Мироновская 808. Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещении 100 Вт/м² и 12-часовом фотопериоде при температуре 23°C. В опытных вариантах ингибитор потенциал-зависимых кальциевых каналов дилтиазем (250 мкМ) и ингибитор фосфолипазы С неомисин (100 мкМ) добавляли в среду выращивания 6-дневных проростков. Через сутки 7-дневные опытные растения помещали в низкотемпературную камеру и далее выращивали при температуре 2°C в течение 7 суток. Данный подход позволяет моделировать первую фазу закаливания растений в лабораторных условиях [10]. Контрольные растения продолжали выращивать при температуре 23°C. В процессе действия низких температур отбирали пробы для определения изменения активности лектинов и фракционного состава лектинов клеточной стенки. Концентрации ингибиторов были подобраны в предварительных экспериментах.

Для экстрагирования растворимых лектинов 0.5 г корней гомогенизировали в 5 мл 0.05 N HCl, постоянно перемешивая в течение 1 ч при 4°C. Затем экстракт центрифугировали при 1000 g 20 мин при той же температуре, осадок промывали 2.5 мл HCl. Надосадочную жидкость объединяли и нейтрализовали двумя объемами натрий-фосфатного буфера (1 M, pH 7.4). Супернатант, полученный после центрифугирования, использовали для определения лектиновой активности [11].

Выделение лектинов клеточной стенки проводили по методу, описанному в ранее опубликованной работе [12]. Остаток после экстрагирования растворимых лектинов гомогенизировали в среде, содержащей 50 mM K-фосфатный буфер (pH 7.4), 10 mM ЭДТА, 0.05 mM ДТТ и 0.5 mM фенолметилсульфонилфторид (ФМСФ). Гомогенат

фильтровали через два слоя хлопчатобумажной ткани. Оставшийся на ткани твердый осадок, содержащий клеточные стенки, после многократных промывок средой для гомогенизации и ацетоном экстрагировали исходной средой с добавлением Тритона X-100 и NaCl до концентраций 0.05 и 0.9% соответственно. После выдерживания этой смеси 3 ч при 2°C при постоянном перемешивании, центрифугировали 10 мин при 8000 об./мин. Осадок отбрасывали, а супернатант (фракция, обогащенная лектинами клеточных стенок) использовали для определения активности лектинов и их дальнейшей очистки.

Содержащиеся в супернатанте лектины высаливали сульфатом аммония при 60% насыщении. После центрифугирования при 4000 g 30 мин, осадок растворяли в среде, содержащей 0.9% NaCl, 10 mM K-фосфатный буфер и 0.5 mM ФМСФ и диализировали в течение 24 ч при температуре 5°C против буферной смеси (0.9% NaCl; 10 mM K-фосфатный буфер, pH 7.4).

Для удаления термолabileльных нелектиновых белков раствор выдерживали 10 мин на ледяной бане, а затем центрифугировали при 15000 g 10 мин. Осадок (денатурированные белки) отбрасывали, а лектины из надосадочной жидкости осаждали 5 объемами ледяного ацетона при –20°C. Последующим центрифугированием при 15000 g 30 мин осаждали белок, высушивали его, растворяли в среде, содержащей 0.9% NaCl, 10 mM K-фосфатный буфер, 0.5 mM ФМСФ; и осветляли центрифугированием при 1500 g 30 мин.

Для анализа лектинов клеточной стенки использовали гель-хроматографию на Сефадексе G-150 (размер колонки 26 × 1.4 см). Супернатант наносили на колонку, предварительно уравновешенную буферной смесью (0.9% NaCl, 50 mM K-фосфатный буфер). Элюцию белка проводили буферной смесью со скоростью 0.48 мл/мин. Адсорбированный на Сефадексе лектин элюировали 0.1 M раствором D-глюкозы в буферной смеси. В собираемых 0.5-миллилитровых фракциях определяли содержание белка и лектиновую активность. Калибровку колонки для последующего расчета молекулярной массы исследуемых белковых фракций проводили с использованием стандартных белков: БСА (66 кД), овальбумина (45 кД) и миоглобина (17 кД).

Активность лектинов определяли по минимальной концентрации белка, вызывающей агглютинацию трипсинизированных эритроцитов 1-й группы крови. Для этого готовили серию двукратно разведенных белковых экстрактов на иммунологических планшетах с U-образными лунками. Результат реакции регистрировали через 2 ч после титрования [13]. Активность лектинов определяли в величинах, обратных минимальной концентрации белка, при которой отмечали реак-

цию гемагглютиниции (мг/мл)⁻¹. Концентрацию белка определяли по методу Bradford [14].

Морозоустойчивость тестировали по выходу электролитов [8]. По 1 г растительного материала помещали в пробирки и ступенчато промораживали при температуре от -2°C до -8°C с интервалом в 2°C. Затем образцы оттаивали, инкубировали в 10 мл воды 1 ч при постоянном встряхивании и измеряли электропроводность на кондуктометре. Максимальный выход электролитов определяли после кипячения испытуемых образцов. Морозоустойчивость рассчитывали по температуре, при которой наблюдали 50% от максимального выход электролитов (LT₅₀).

Все эксперименты проводили по меньшей мере в трехкратной биологической повторности. Повторность в пределах одного опыта трехкратная. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили путем определения средних арифметических значений и их стандартных ошибок.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ингибиторы кальциевой сигнальной системы, неомидин и дилтиазем, практически не изменяли показатель LT₅₀ у незакаленных растений и повышали его, т.е. снижали морозоустойчивость, у закаленных в течение 7 суток растений (табл. 1). Поскольку используемые в работе ингибиторы оказывали влияние на устойчивость только закаленных растений, все эффекты неомидина и дилтиазема на активность и состав лектинов были исследованы в этих условиях.

Изменение активности лектинов клеточной стенки при действии низких температур, как и в ранее проведенных экспериментах, характеризовалось наличием двух пиков активности – через 0.5 и 6 ч гипотермии (рис. 1а). Активность растворимых лектинов (рис. 1б) в первые 6 ч воздействия низких температур увеличивалась, достигая наибольшего значения через 6 ч, к 7 суткам закаливания она снижалась до уровня незакаленных растений. В оптимальных условиях роста (23°C) изменение активности лектинов объясняется суточной динамикой в ходе всего эксперимента.

Ингибитор фосфолипазы С – неомидин, добавленный в среду выращивания за сутки до начала действия низких температур (рис. 1а), через 0.5 ч гипотермии снижал активность лектинов клеточной стенки по сравнению с вариантом гипотермии без ингибитора. С увеличением времени действия низких температур неомидин неоднородно изменял активность лектинов клеточной стенки (сначала уменьшал, к 24 ч обратно повышал на фоне относительно небольшой холод-индуцируемой активации), и к 7 суткам закаливания активность была такой же, как и в варианте гипотермии без ингибиторов. Активность

Таблица 1. Влияние ингибиторов кальциевой сигнальной системы на LT₅₀ корневых проростков озимой пшеницы

Вариант	Незакаленные растения, 7 суток, 23°C	Закаленные в течение 7 суток при 2°C растения
Контроль	-3.7 ± 0.2	-5.8 ± 0.3
Неомидин	-3.6 ± 0.2	-4.0 ± 0.2
Дилтиазем	-3.5 ± 0.2	-3.9 ± 0.2

Примечание. Ингибиторы добавляли в среду выращивания растений за сутки до начала действия низких температур.

растворимых лектинов (рис. 1б) под влиянием неомидина в течение всего времени наблюдения была значительно ниже, чем в варианте гипотермии без ингибиторов.

При действии ингибитора потенциал-зависимых Ca²⁺-каналов дилтиазема (рис. 1а) достоверное увеличение активности лектинов клеточной стенки наблюдали через 1 и 3 ч гипотермии, а в последующих точках (6 и 24 ч, 7 суток) активность была ниже, чем в варианте без ингибиторов. Дилтиазем подавлял активность растворимых лектинов (рис. 1б) в первые часы низкотемпературного воздействия (до 6 ч), а затем ее значения не отличались от варианта гипотермии без ингибиторов.

С помощью гель-фильтрации было проведено хроматографическое разделение белков клеточной стенки корней озимой пшеницы с последующим тестированием полученных фракций на лектиновую активность. На приведенных хроматограммах отмечены молекулярные массы тех фракций, в которых была обнаружена эта активность. При разделении белков клеточной стенки из контрольных растений лектиновую активность обнаружили во фракциях, содержавших белки с мол. м. 85, 77, 54 и 43 кД (рис. 2).

Через 30 мин гипотермии наблюдали значительные изменения состава лектинов (рис. 3а). Исчезли лектины с мол. м. 85, 77 и 54 кД и появились лектины с мол. м. 110, 105, 70, 50 и 34 кД. Согласно данным литературы, лектин 34 кД, возможно, является классическим лектином пшеницы – агглютинином зародышей пшеницы (АЗП). Как показывают результаты, приведенные в табл. 2, в этих условиях увеличивалось содержание белков во фракции, элюированной глюкозой. Согласно нашим данным, в этой фракции присутствуют в основном арабиногалактановые белки (АГБ) [8]. Вновь появившийся лектин 70 кД также давал окраску с реагентом Ярива, т.е. по-видимому, был АГБ.

Через 1 ч низкотемпературного воздействия (рис. 3б) происходило полное обновление состава лектинов. Исчезли все присутствующие ранее лектины и были обнаружены новые с мол. м. 98, 60 и 25 кД. После 3 ч воздействия вновь появились лектины с мол. м. 85, 43 и 34 кД и одновре-

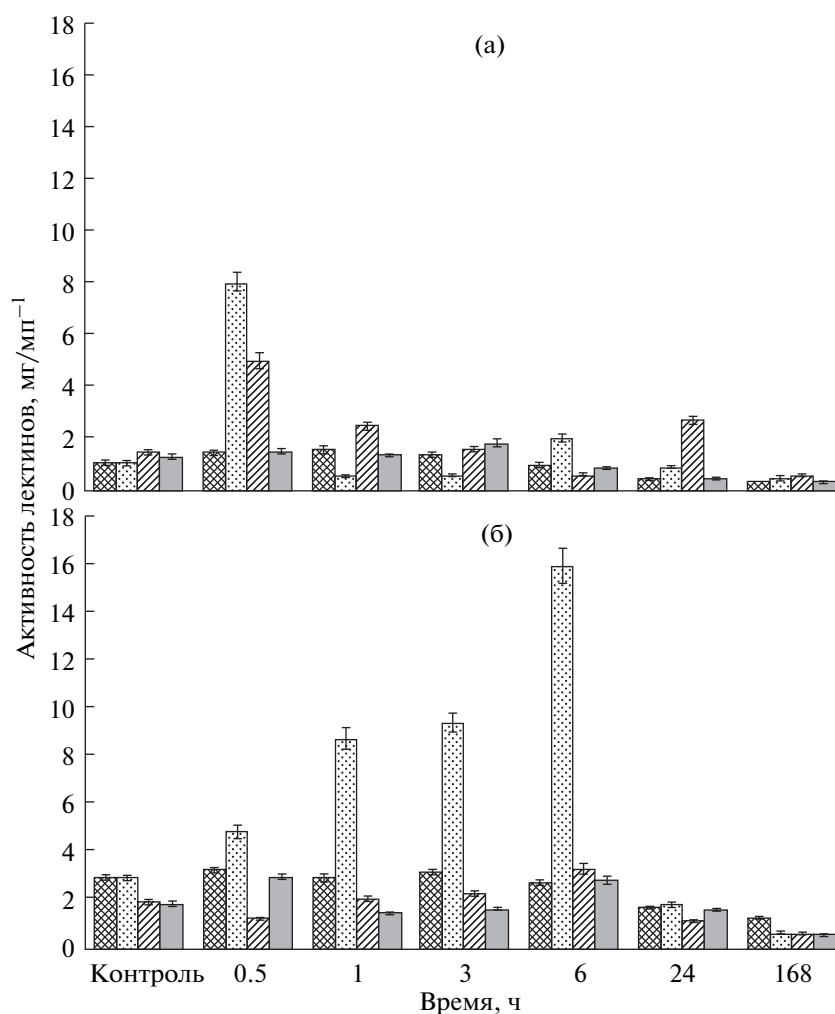


Рис. 1. Активность лектинов при действии низких температур.

а – лектины клеточной стенки, б – растворимые лектины. Обозначения вариантов опыта и концентрации ингибиторов приведены на рисунке. 1 – 23°C; 2 – 2–3°C; 3 – 2–3°C + 100 мкМ неомисин; 4 – 2–3°C + 250 мкМ дилтиазем.

менно увеличилось количество низкомолекулярных белков с лектиновой активностью (рис. 3в).

На фоне дилтиазема после 30 мин действия низких температур (рис. 4а) спектр лектиновых белков не изменился по сравнению с контрольными (незакаленными) растениями (рис. 2). После 1 ч гипотермии (рис. 4б) с дилтиаземом появились белки с мол. м. 105, 70, и 34 кД, которые в варианте без дилтиазема были выявлены через 0.5 ч низкотемпературного воздействия. Через 3 ч гипотермии повышалась активность лектинов в варианте с дилтиаземом (рис. 1а), увеличивалось количество пиков лектинов (рис. 4в) и содержание белка, элюированного глюкозой (табл. 2). Состав лектинов (рис. 4в) незначительно отличался от белков с лектиновой активностью контрольных растений (рис. 2). Исключение составили низкомолекулярные лектины 25 и 11 кД, ко-

торые появились через 1 ч и остались после 3 ч действия низких температур.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что лектины клеточной стенки и растворимые лектины по-разному реагируют на холодное воздействие. Наивысшую активность лектинов клеточной стенки наблюдали через 0.5 ч гипотермии (увеличение в 8 раз). Активность растворимых лектинов повышалась постепенно и достигала максимума через 6 ч, однако это повышение было более значительным. Активность растворимых лектинов в этих условиях увеличивалась в 5 раз, а лектинов клеточной стенки – в 2 раза.

Изменение лектиновой активности при гипотермии, может быть следствием как трансляционных, так и посттрансляционных событий.

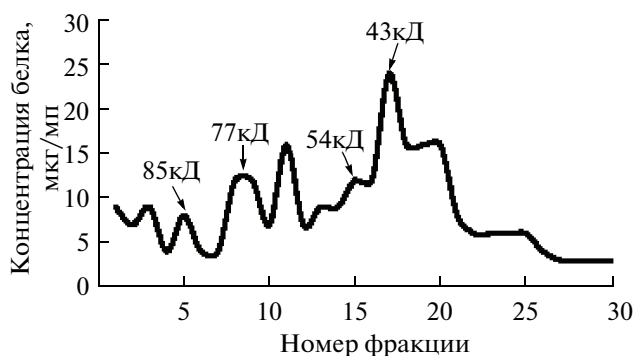


Рис. 2. Профиль элюции белков клеточной стенки контрольных растений проростков озимой пшеницы, выросших при оптимальной температуре 23°C.

Быстрое увеличение активности лектинов может быть связано с их модификацией; однако нельзя также исключить увеличение содержания этих белков за счет их новообразования.

Ранее было показано, что при действии на растения низкой положительной температуры происходит изменение в гормональном статусе растений, в том числе и уровне фитогормонов, контролирующих содержание лектинов. Было установлено, что накопление АЗП (лектина пшеницы) зависит от содержания таких фитогормонов, как АБК, эпибрасинолид, ГК и ИУК. Все эти фитогормоны в течение первых 3 ч действия вызывали 2–3-кратное увеличение содержания лектиновых мРНК [15] и двукратное – самого АЗП [16].

Известно, что в ходе синтеза многие лектины, в частности АЗП, претерпевают сложный посттрансляционный процессинг [17]. В связи с этим, увеличение содержания лектинов может происходить за счет ранее синтезированных предшественников.

Кроме того, низкие температуры влияют на физико-химические свойства белков и могут индуцировать изменения их конформации [10]. Возможно, быстрые изменения в активности лектинов могут быть результатом конформационных перестроек молекулы белка, в результате которых изменяется доступность углеводов-связывающих центров.

Необходимо также отметить, что при действии низкой температуры может происходить изменение углеводного состава клетки, в результате чего может накапливаться ряд углеводов, являющихся или же, наоборот, не являющихся специфическими гаптенами для исследуемых лектинов. В таком случае увеличение или уменьшение связывания лектинов со специфическими для них сахарами также может изменять их активность.

В регуляцию активности лектинов могут быть вовлечены сигнальные системы, в частности,

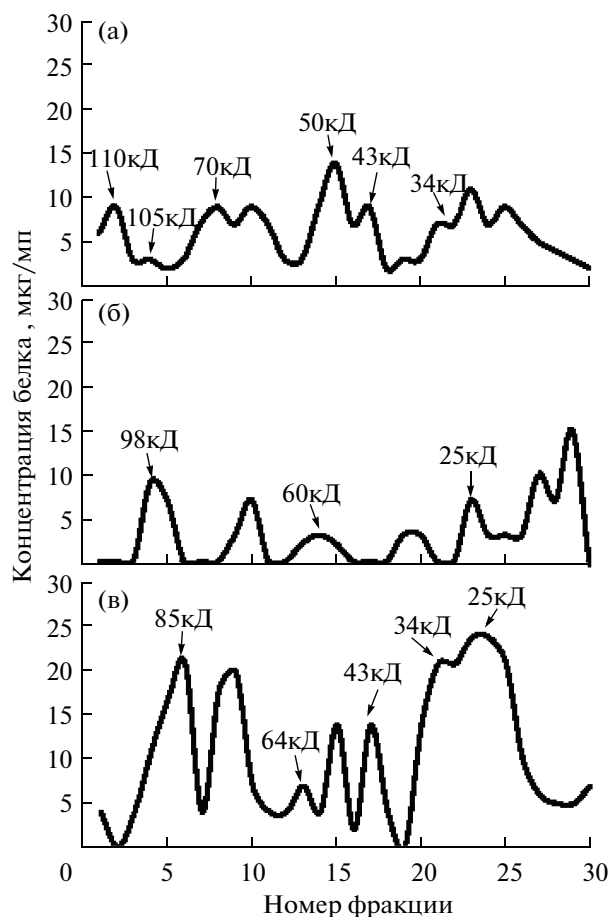


Рис. 3. Профили элюции белков клеточной стенки проростков озимой пшеницы, подвергнутых воздействию низких температур в течение 0.5 ч (а), 1 ч (б), 3 ч (в).

кальциевая сигнальная система. Активность лектинов может регулироваться всеми звеньями Ca^{2+} -сигнальной цепи. Ca^{2+} может активировать кальций-фосфолипид-зависимые протеинкиназы и кальций-кальмодулин-зависимые протеинкиназы, которые способны осуществлять фосфорилирование большого количества белков [18], в том числе и лектинов, регулируя их активность. В то же время, изменение конформации белков при таких посттрансляционных модификациях может привести к увеличению доступности мест для протеаз, разрушающих эти белки. Кроме того, фосфорилирование с участием протеинкиназ может вызвать активацию или ингибирование ферментов, ответственных за превращение предшественников в зрелые лектины.

Согласно нашим данным [9], среди лектинов клеточной стенки обнаружены арабиногалактановые белки. Известно, что некоторые АГБ содержат карбоксилтерминальные гликозилфосфатидилинозитольные “якоря”, при помощи которых они закрепляются на плазматической

Таблица 2. Изменения содержания белков клеточной стенки в корнях проростков озимой пшеницы при действии гипотермии и дилтиазема (мкг/г сырого веса)

Вариант	Белки, полученные при гель-хроматографии	Белки фракции, элюированной глюкозой
Контроль (незакаленные)	5.2 ± 0.7	3.3 ± 0.5
30 мин гипотермии	10.9 ± 0.8	5.4 ± 0.6
30 мин гипотермии + дилтиазем	5.6 ± 0.6	3.7 ± 0.4
1 ч гипотермии	2.7 ± 0.3	14.4 ± 0.3
1 ч гипотермии + дилтиазем	11.7 ± 0.5	3.9 ± 0.2
3 ч гипотермии	10.4 ± 0.4	10.4 ± 0.3
3 ч гипотермии + дилтиазем	17.2 ± 0.4	10.8 ± 0.5

Примечание. Дилтиазем в концентрации 250 мкМ добавляли в среду выращивания растений за сутки до начала действия низких температур.

мембране [19]. Воздействие низких температур вызывает активацию фосфолипаз С и Д [20], которые отсекают фосфотидилинозитольный домен АГБ, высвобождая АГБ из плазматической мембраны в клеточную стенку. Следствием этого может быть появление первого пика активности лектинов клеточной стенки, наблюдаемого через 30 мин гипотермии. Неомицин, блокируя активность фосфолипазы С, может приводить к уменьшению этого пика (рис. 1а).

Мы полагаем, что наблюдаемый ингибирующий эффект дилтиазема на активность лектинов клеточной стенки может быть опосредован его влиянием на фосфолипазу С. В настоящее время предложена схема распространения кальциевой волны, в которой предполагается, что после открывания кальциевого канала у его отверстия происходит накопление относительно медленно диффундирующих ионов кальция, вызывающих активацию в этой области мембраносвязанной фосфолипазы С [18]. Освобождающийся в результате фосфолипазной реакции инозитолтрифосфат подвижен и, диффундируя от места образования, может связываться с белками кальциевых каналов и открывать их.

Дилтиазем, блокируя высокоселективные кальций-проницаемые каналы плазмалеммы, останавливает формирование локального кальциевого сигнала в примембранной области,

предотвращая активацию фосфолипазы С. Нарушение последовательности событий проведения кальциевого сигнала в клетке может уменьшать высвобождение АГБ из плазмалеммы в клеточную стенку и ингибировать синтез новых белков в условиях холодного стресса. В то же время, нечувствительные к дилтиазему кальциевые каналы других типов в условиях гипотермии остаются открытыми. Поступающий через них поток ионов кальция может активировать растворимую фосфолипазу С. Это может объяснять тот факт, что при действии дилтиазема увеличение активности лектинов клеточной стенки наблюдали только через 3 ч (рис. 1а).

Тестируя активность растворимых лектинов, мы определяли изменения активности одного и того же белка – АЗП, который присутствует в разных органах и на всех стадиях развития растений пшеницы. Ингибирование функционирования кальциевой сигнальной системы может привести к нарушению синтеза стрессовых белков. АЗП, уровень которого может возрастать в несколько раз в растениях, подвергнутых стрессовым воздействиям разной природы, можно отнести к конститутивным стрессовым белкам [1]. Резкое снижение активности растворимых лектинов под действием исследованных ингибиторов (рис. 1б) указывает на решающую роль кальциевой сигнальной системы в регуляции их активности.

Можно предполагать, что блокирование дилтиазем-чувствительных кальциевых каналов замедляет ответную реакцию организма на стрессовое воздействие и не позволяет клетке быстро реагировать на неблагоприятные условия. Следует также отметить, что спектр индуцированных холодом белков под влиянием дилтиазема (рис. 4) отличался от такового в варианте без ингибитора (рис. 3). Так, в варианте с дилтиаземом не были обнаружены белки 110 и 60 кД (рис. 4). Логично предположить их важную роль в формировании морозоустойчивости, поскольку закаливание растений в присутствии дилтиазема не приводило к повышению устойчивости.

В последнее время широко обсуждается возможная роль лектинов клеточной стенки, в частности АГБ, киназ, ассоциированных с клеточной стенкой, и киназ, связанных с лектинами, в осуществлении контакта между клеточной стенкой и плазмалеммой и их участие в проведении сигнала через клеточную поверхность [4–7]. С другой стороны, высказывается предположение о существовании сигнальных путей в апопласте растений [21]. На это указывают данные о существовании протеинкиназ в клеточной стенке и фосфорилирования по тирозину белков клеточной стенки.

Таким образом, нами показано, что быстрые и значительные изменения активности и состава лектинов клеточной стенки при действии низких температур зависят от кальциевой сигнальной си-

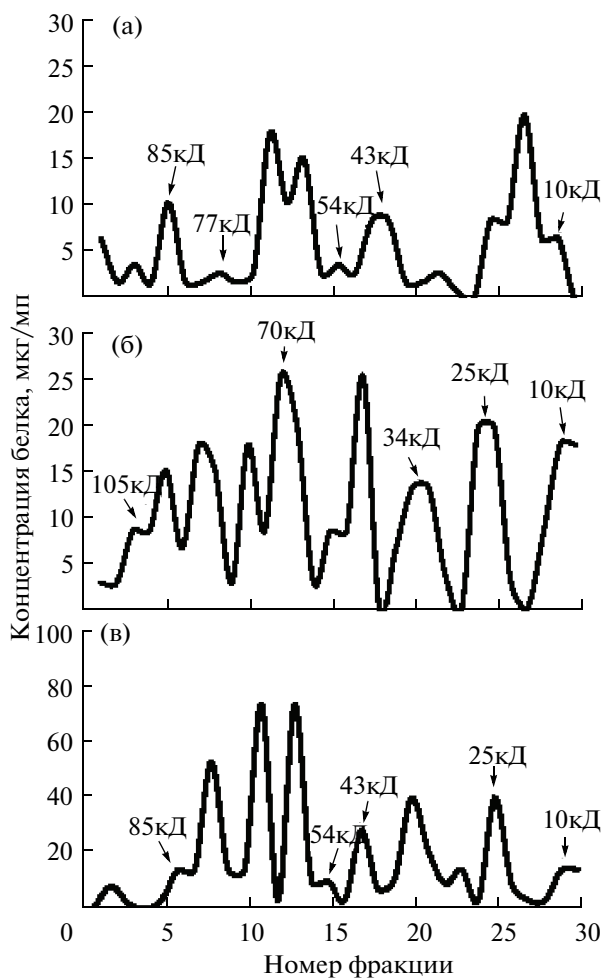


Рис. 4. Профили элюции белков клеточной стенки проростков озимой пшеницы при совместном действии дилтиазема и низких температур в течение 0.5 ч (а), 1 ч (б), 3 ч (в).

Дилтиазем в концентрации 250 мкМ добавляли в среду выращивания растений за сутки до начала действия низких температур (2°С).

стемы и могут быть связаны с участием лектинов в проведении сигнала внутрь клетки или непосредственно в апопластном пространстве.

Авторы выражают благодарность проф. Каримовой Ф.Г. (Казанский институт биохимии и биофизики, РАН, Казань) за исключительно полезное обсуждение результатов данной работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шакирова Ф.М., Безрукова М.В. Современные представления о предполагаемых функциях лектинов растений // Журн. общей биологии. 2007. Т. 68. С. 98–114.
2. Van Damme E.J.M., Lannoo N., Fouquaert E., Peumans W.J. The Identification of Inducible Cyto-

plasmic/Nuclear Carbohydrate-Binding Proteins Urges to Develop Novel Concepts about the Role of Plant Lectins // Glycoconjugate J. 2004. V. 20. P. 449–460.

3. Showalter A.M. Structure and Function of Plant Cell Wall Proteins // Plant Cell. 1993. V. 5. P. 9–23.
4. Sardar H.C., Yang J., Showalter A.M. Molecular Interactions of Arabinogalactan Proneins with Cortical Microtubules and F-Actin in Bright Yellow–2 Tobacco Cultured Cells // Plant Physiol. 2006. V. 142. P. 1469–1479.
5. Sardar H.C., Showalter A.M. A Cellular Networking Model Involving Interactions among Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-Anchored Plasma Membrane Arabinogalactan Proteins (AGPs), Microtubules and F-Actin in Tobacco BY-2 Cells // Plant Signal. Behav. 2007. V. 2. P. 8–9.
6. Gouget A., Senchou V., Govers F., Sanson A., Barre A., Rouge P., Pont-Lezica P., Canut H. Lectin Receptor Kinases Participate in Protein–Protein Interactions to Mediate Plasma Membrane–Cell Wall Adhesions in Arabidopsis // Plant Physiol. 2006. V. 140. P. 81–90.
7. Baluska F., Samaj J., Wojtaszek P., Volkman D., Menzel D. Cytoskeleton–Plasma Membrane–Cell Wall Continuum in Plants. Emerging Links Revisited // Plant Physiol. 2003. V. 133. P. 482–491.
8. Timofeeva O., Khokhlova L., Belyaeva N., Chulkova Y., Garaeva L. Cytoskeleton-Induced Alterations of the Lectin Activity in Winter Wheat under Cold Hardening and Abscisic Acid (ABA) // Cell Biol. Int. 2000. V. 24. P. 375–381.
9. Garaeva Л.Д., Поздеева С.А., Тимофеева О.А., Хохлова Л.П. Лектины клеточной стенки при закаливании к холоду озимой пшеницы // Физиология растений. 2006. Т. 53. С. 845–850.
10. Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс. М.: Наука, 2007. 54 с.
11. Шакирова Ф.М., Безрукова М.В., Хайруллин Р.М., Ямалеев А.М. Увеличение уровня лектина в проростках пшеницы под влиянием солевого стресса // Изв. РАН. Сер. биол. 1993. № 1. С. 143–145.
12. Комарова Э.Н., Выскребенцева Э.И., Трунова Т.И. Изменение лектиновой активности меристемы узла кушения озимой пшеницы при закаливании к морозу // Физиология растений. 1995. Т. 42. С. 612–615.
13. Bradford M.A. Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein–Dye Binding // Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
14. Roopashere S., Singh S.A., Gowda L.R., Rao A.G.A. Dual-Function Protein in Plant Defense: Seed Lectin from Dolichos biflorus (Horse Gram) Exhibits Lipoxigenase Activity // Biochem. J. 2006. 395. P. 629–639.
15. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
16. Авальбаев А.М., Безрукова М.В., Шакирова Ф.М. Множественная гормональная регуляция содержания лектина в корнях проростков пшеницы // Физиология растений. 2001. Т. 48. С. 718–722.

17. *Mansfield M.A., Peumans W.J., Raikhel N.V.* Wheat Germ Agglutinin Is Synthesized as a Glycosylated Precursor // *Planta*. 1988. V. 173. P. 482–489.
18. *Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.
19. *Shi H., Kim Y.S., Guo Y.* The Arabidopsis SOS5 Locus Encodes a Putative Cell Surface Adhesion Protein and Is Required for Normal Cell Expansion // *Plant Cell*. 2003. V. 15. P. 19–32.
20. *Ruelland E., Cantrel C., Gawer M.* Activation of Phospholipases C and D Is an Early Response to a Cold Exposure in Arabidopsis Suspension Cells // *Plant Physiol.* 2002. V. 130. P. 999–1007.
21. *Chivasa S., Ndimba B.K., Simon W.J., Robertson D., Yu X-L., Knox J.P., Bolwell P., Slabas A.R.* Proteomic Analysis of the Arabidopsis thaliana Cell Wall // *Electrophoresis*. 2002. V. 23. P. 1754–1765.