

**Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА БОТАНИКИ И ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

Направление: 06.03.01 – БИОЛОГИЯ

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

СПЕРМИН-ИНДУЦИРОВАННАЯ АУТОФАГИЯ

В КЛЕТКАХ ПШЕНИЦЫ

Работа завершена:

" ___ " _____ 2016 г. _____ (А.Б. Мазина)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.б.н., м.н. с.

" ___ " _____ 2016 г. _____ (С.А. Дмитриева)

Заведующий лабораторией

Окислительно-восстановительного

Метаболизма КИББ КазНЦ РАН, д.б.н.

" ___ " _____ 2016 г. _____ (Ф.В. Минибаева)

Заведующий кафедрой

д.б.н., доцент

" ___ " _____ 2016 г. _____ (О.А. Тимофеева)

Казань – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Аутофагия	6
1.1.1. Виды аутофагии	6
1.1.2 Сигнальные пути аутофагии	7
1.1.3 Селективная аутофагия	9
1.1.4 Индукция аутофагии	10
1.1.5 Программируемая клеточная смерть	11
1.2. Активные формы кислорода	12
1.2.1 Виды АФК. Места генерации в растительной клетке	12
1.2.2 Антиоксидантная система	14
1.2.3 Сигнальная роль	15
1.2.4 Токсический эффект	16
1.3 Полиамины	17
1.3.1 Предшественники, ферменты синтеза и распада	17
1.3.2 Роль в норме	18
1.3.3 Роль при стрессе	19
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	23
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	23
2.1 Объект исследований	23
2.2 Окраска клеток и приготовление цитологических препаратов для световой и конфокальной микроскопии	23
2.3 Визуализация аутофагосом	24
2.4 Определение жизнеспособности клеток	24
2.5 Определение интенсивности потребления кислорода	24
2.6 Определение содержания H ₂ O ₂	25
2.7 Определение интенсивности ПОЛ	26

2.8 Выделение аутофагосом в градиенте плотности перколла	27
2.8.1 Определение активности кислой фосфотазы	27
2.8.2 Определение активности протеазы	27
2.8.3 Определение активности каталазы	28
2.8.4 Определение белка по методу Bradford	28
2.9 Обработка данных	28
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	29
3.1 Образование аутофагосом, редокс-статус и жизнеспособность клеток пшеницы при действии спермина	29
3.2 Изменение дыхательной активности и митохондриального мембранного потенциала при действии спермина	35
3.3 Изоляция аутофагосом из клеток суспензионной культуры пшеницы при действии спермина	39
ВЫВОДЫ	45
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ	46

ВВЕДЕНИЕ

В растениях роль аутофагии показана в онто- и органогенезе при формировании растительных тканей, например, при образовании аэренхимы и сосудов ксилемы [Siyiannis *et al.*, 2012], в процессах старения и программируемой гибели клеток [Hanamata *et al.*, 2014]. Накопленный экспериментальный материал заставил коренным образом пересмотреть первоначальные представления об аутофагии лишь как о процессе программируемой клеточной смерти. В настоящее время аутофагию также рассматривают как неспецифическую защитную реакцию клеток, направленную на выживание в стрессовых условиях окружающей среды. В растениях аутофагия активируется при действии таких неблагоприятных факторов как голодание, затопление, засоление, засуха, инфицирование патогенами [Siyiannis *et al.*, 2012]. Активация аутофагических процессов при стрессе направлена на эффективное расщепление макромолекул с целью обеспечения клеток необходимыми строительными и энергетическими субстратами [Slavikova *et al.*, 2005], а также на своевременное удаление окисленных или отслуживших макромолекул и поврежденных структур [Shi *et al.*, 2013]. Активные формы кислорода (АФК) в настоящее время рассматривают как основные сигнальные молекулы при запуске аутофагии в растительных клетках [Van Breusegem, Dat, 2006].

Полиамины относятся к группе низкомолекулярных азотсодержащих эндогенных соединений, участвующих в неспецифических защитных реакциях растений в ответ на стрессоры различной природы. Недавние исследования показали, что экзогенное применение полиаминов продлевало жизнь за счет активации аутофагии в клетках различных модельных организмов (в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*, нематоде *Caenorhabditis elegans* дрозофиле и клетках иммунной системы), а генетическая инактивация аутофагических генов предотвращала продлевающий жизнь

эффект [Eisenberg *et al.*, 2009; Madeo *et al.*, 2010]. Полиамины повышают общую устойчивость и выживаемость растительных клеток, что обусловлено антиоксидантными свойствами полиаминов [Groppa *et al.*, 2003] и активацией систем антиоксидантной защиты [Hiraga *et al.*, 2000]. Хотя полиамины играют двойственную роль в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза, являясь как источниками, так и «ловушками» АФК [Wimalasekera *et al.*, 2011]. Данные по активации аутофагии при действии полиаминов в клетках растений отсутствуют в литературе.

В связи с этим, целью настоящей работы было изучение активации аутофагии в клетках корней и суспензионной культуре пшеницы при действии спермина.

Были поставлены следующие задачи:

1. Изучить образование аутофагосом в клетках корней и суспензионной культуре пшеницы при действии спермина.
2. Оценить жизнеспособность клеток, содержание в них перекиси водорода и уровень перекисного окисления липидов при активации аутофагии.
3. Оценить влияние спермина на дыхательную активность и изменение митохондриального мембранного потенциала ($\Delta\Psi_m$) в клетках корней и суспензионной культуре пшеницы.
4. Провести фракционирование субклеточных компонентов и выделить аутофагосомы из клеток суспензионной культуры пшеницы.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что спермин в низких концентрациях (10^{-5} М и 10^{-6} М) индуцирует образование аутофагосом как в клетках корней, так и в суспензионной культуре пшеницы. Наибольшее образование аутофагосом в клетках пшеницы происходило при действии 10^{-5} М.
2. Спермин-индуцированная аутофагия в клетках пшеницы сопровождалась увеличением содержания H_2O_2 и не приводила к гибели клеток.
3. Аутофагия при действии спермина в клетках корней и суспензионной культуре пшеницы не сопровождалась ингибированием дыхания и падением $\Delta\Psi_m$.
4. Применение спермина в высокой концентрации (10^{-4} М) приводило к нарушению функционирования митохондрий, ингибированию дыхания, образованию конгломератов внутри клеток, развитию окислительного стресса и гибели, что свидетельствует о токсичном действии на клетки корней и суспензионную культуру пшеницы.
5. Из клеток суспензионной культуры пшеницы выделены фракции, обогащенные аутофагосомами, что подтверждается методами биохимии и конфокальной микроскопии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. **Акулов, А. Н.** Экспрессия 1-цис пероксиредоксина в морфогенных и неморфогенных каллусах гречихи Татарской [Текст] / А. Н. Акулов, А. Ю. Скрипников, Н. И. Румянцева // Физиология растений. – 2010. – Т.57. – С. 433-440.
2. **Аронова, Е. Е.** Индукция кадаверином экспрессии гена супероксиддисмутазы у растений *Mesembryanthemum crystallinum L.* [Текст] / Е. Е. Аронова // Доклады Академии наук. – 2005. – Т.403. – С. 131–134.
3. **Березов Т. А.** Роль обмена полиаминов в функциональной активности мозга в норме и при патологии [Текст] / Т. А.Березов, М. Т. Маклецова, С. С. Сяткин, С. А. Рихирева // Журнал неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова. Детская неврология и психиатрия. – 2013. – N7. – С.65-70.
4. **Гарифзянов, А. Р.** Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений [Текст] / А. Р. Гарифзянов, Н. Н. Жуков, В. В. // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2. – С. 35–48.
5. **Ковалева, О. В.** Клиническая онкогематология [Текст] / О. В. Ковалева, М. С. Шитова, И. Б. Зборовская // Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2014. – Т.7. – С. 354-387.
6. **Колупаев, Ю. Е.** Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции [Текст] / Ю. Е. Колупаев // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Сер. Биология. – 2007. – №3. – С. 12.
7. **Королькова, Д. А.** Влияние спермина на функционирование антиоксидантной системы растений *Thellungiella Salsugines* [Текст] : автореф. дис. ... биол. наук / Д. А. Королькова; Моск. инст. им Тимирязева. – Москва, 2013. – 125 с.
8. **Кузнецов, В. В.** Полиамины при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция [Текст] / В. В. Кузнецов, Н.Л. Радюкина, Н. И. Шевякова // Физиология растений. – 2006. – Т.53. – С. 658-683.
9. **Нестерова, Л. Ю.** Роль полиаминов в защите *Escherichia coli* от окислительного стресса, вызванного перекисью водорода [Текст] : автореферат дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.04, 03.00.04 / Л. Ю. Нестерова, Рос. ун-т дружбы народов. – Москва, 2004. – 88 с
10. **Пупышев, А. Б.** Репаративная аутофагия и аутофаговая гибель клетки, функциональные и регуляторные аспекты [Текст] / А. Б. Пупышев // Цитология. – 2014. – Т.56. – С. 179-196.

11. **Радюкина, Н. Л.** Функционирование компонентов антиоксидантной системы дикорастущих видов растений при кратковременном действии стрессоров [Текст] : автореф. дис. ... док. биол. наук / Н. Л. Радюкина ; Моск. инст. им. Тимирязева. – Москва, 2015. – 78 с.
12. **Семихатова, О. А.** Манометрические методы изучения дыхания и фотосинтеза растений / О. А. Семихатова, М. В. Чулановская. - М.: Наука, 1965. – 594 с.
13. **Свинарев, В. И.** Роль полиаминов в этиопатогенезе шизофрении [Текст] : автореферат дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.16, 03.00.04 / В. И. Свинарев ; Рос. ун-т дружбы народов. – Москва, 2007. – 43 с.
14. **Скулачев, В. П.** Кислород в живой клетке: Добро и зло [Текст] / В. П. Скулачев // Соросовский образовательный журнал. – 1996. – №3. – С. 2-10.
15. **Шляховенко, В.А.** Соотношения ферментов синтеза и окисления полиаминов в процессе пролиферации и дифференцировки клеток [Текст] / В.А. Шляховенко, Л. С. Бундюк, Н. Я. Гридина // Экспериментальная онкология. – 1987. – Т.9. – С. 28-32.
16. **Apel, K.** Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction [Text] / K. Apel // Plant Biology. – 2004. – V.55. – P. 373-399.
17. **Asada, K.** The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons [Text] / K. Asada // Plant Mol. Biol. – 1999. – V.50. – P. 601-639.
18. **Azad, M. B.** Regulation of Autophagy by Reactive Oxygen Species (ROS): Implications for Cancer Progression and Treatment [Text] / M. B. Azad, Y. Chen, S. B. Gibson // Antioxidants & Redox Signaling. – 2009. – V.11. – P. 637-651.
19. **Bassham, D. C.** Plant autophagy—more than a starvation response [Text] / D. C. Bassham // Current opinion in plant biology. – 2007. – V.10. – P. 587-593.
20. **Basu, H. S.** Effects of variation in the structure of spermine on the association with DNA and the induction of DNA conformational changes [Text] / H. S. Basu, H. C. Schwieter, B. G. Feuerstein, L. J. Marton // Biochemical Journal. – 1990. – V.269. – P. 329-334.
21. **Berna, A.** Regulation by biotic and abiotic stress of a wheat germin gene encoding oxalate oxidase, a H₂O₂-producing enzyme [Text] / A. Berna, F. Bernier // Plant molecular biology. – 1998. – V.39. – P. 539-549.
22. **Besford, R. T.** Effect of polyamines on stabilization of molecular complexes in thylakoid membranes of osmotically stressed oat leaves [Text] / R. T. Besford, C. M. Richardson, L.J. Campos, A. F. Tiburcio // Planta. – 1993. – V.189. – P. 201-206.

23. **Bird, S.** Nonlytic viral spread enhanced by autophagy components [Text] / S. W. Bird, N. D. Maynard, M. W. Covert, K. Kirkegaard // Current opinion in plant biology. – 2014. – V.111. – P. 13081-13086.
24. **Blokhina, O.** Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation [Text] / O. Blokhina, K. V. Fagerstedt // Plant Physiology and Biochemistry. – 2010. – V.48. – P. 359-373.
25. **Bolwell, G. P.** Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence—a broad perspective [Text] / G. P. Bolwell, P. Wojtaszek // Physiological and Molecular Plant Pathology. – 1997. – V.51. – P. 347-366.
26. **Carrillo, N.** The Role of Photosynthetic Electron Transport in the Oxidative Degradation of Chloroplastic Glutamine Synthetase [Text] // J.F. Palatnik, N. Carrillo E. M. Valle // Plant Physiology. – 1999. – V.12. – P. 471-478.
27. **Cassells, A. C.** Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers [Text] / A. C. Cassells, R. F. Curry, R. F // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2001. – V.64. – P. 145-157.
28. **Castino, R.** Chelation of Lysosomal Iron Protects Dopaminergic SH-SY5Y Neuroblastoma Cells from Hydrogen Peroxide Toxicity by Precluding Autophagy and Akt Dephosphorylation [Text] / R. Castino, I. Fiorentino, M. Cagnin, A. Giovia, C. Isidoro // Toxicol. Sci. – 2011. – V.123. – P. 523-541.
29. **Clarke, P. G.** Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms [Text] / P. G. Clarke // Anatomy and embryology. 1990. – V.181. – P. 195-213.
30. **Cohen, L. F.** Distribution of spermidine and spermine in blood from cystic fibrosis patients and control subjects [Text] / L. F. Cohen, D. W. Lundgren // Blood. – 1976. – V.48. – P. 469-475.
31. **East, P. L.** Adolescent pregnancy and parenting: Findings from a racially diverse sample [Text] / P. L. East, M. E. Felice // Psychology Press. – 2014. – V.34. – P. 34-62.
32. **Eisenberg, A.** Life and death partners: apoptosis, autophagy and the cross-talk between them [Text] / A. Eisenberg, A.S Bialik, H. Simon and A. Kimchi // Cell Death and Differentiation. – 2009. – V.16. – P. 966–975.
33. **Flores, T.** Arginase-negative mutants of Arabidopsis exhibit increased nitric oxide signaling in root development [Text] / T. Flores, C. D. Todd, A. Tovar-Mendez, P. K. Dhanoa, N. Correa-Aragunde, M. E. Hoyos // Plant physiology. – 2008. – P.147. – P. 1936-1946.
34. **Foyer, C. H.** Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context [Text] / C. H. Foyer, G. Noctor // Plant, Cell & Environment. – 2005. – V.28. – P. 1056–1071.

35. **Gallo, K. A.** Mixed-lineage kinase control of JNK and p38 MAPK pathways [Text] / K. A. Gallo, G. L. Johnson // *Nature reviews Molecular cell biology*. – 2002. – V.3. – P. 663-672.
36. **Gechev, T. S.** Transcriptomic Footprints Disclose Specificity of Reactive Oxygen Species Signaling in Arabidopsis [Text] / T. S. Gechev, I. Gadjev, S. Vanderauwera, , C. Laloi, I. N. Minkov // *Plant Physiology*. – 2006. – V.141. – P. 436-445.
37. **Chen, H. M.** Autophagy promotes necrosis in apoptosis-deficient cells in response to ER stress / H. M. Chen, Z. Yue, W. X. Zong, // *Cell death and differentiation*. – 2008. – V.15. – P. 422.
38. **Gill, S. S.** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants [Text] / S. S Gill, N. Tuteja // *Plant physiology and biochemistry*. – 2010. – V.48. – P. 909-930.
39. **Grancara, S.** A novel enzyme with spermine oxidase properties in bovine liver mitochondria: Identification and kinetic characterization [Text] / S. Grancara, P. Martinis, A. Stringaro, M. Colone, E. Agostinelli // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2015. – V.81. – P. 88-99.
40. **Groppa, M. D.** Polyamine metabolism in sunflower and wheat leaf discs under cadmium or copper stress [Text] // M. D. Groppa, M. P. Benavides, M. L. Tomaro // *Plant Science*. – 2003. – V.164. – P. 293–299.
41. **Hanamata, S.** In vivo imaging and quantitative monitoring of autophagic flux in tobacco BY-2 cells [Text] / S. Hanamata, T. Kurusu, M. Okada, A. Suda, K. Kawamura, E. Tsukada // *Plant Signal*. – 2013. – V.6. – P. 847–864.
42. **He, C.** Regulation Mechanisms and Signaling Pathways of Autophagy [Text] / C. He, D. J. Klionsky // *Annu Rev Genet*. – 2009. – V. 43. – P. 67–93.
43. **Heby, O.** Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation [Text] / O. Heby // *Differentiation*. – 1981. – V.19. – P. 1-20.
44. **Hiraga, S.** Dynamic organization of chromosomal DNA in Escherichia coli [Text] / S. Hiraga, N. Hironori, Y. Yoshiharu // *Genes & Dev*. – 2000. – V.14. – P. 212–223.
45. **Ishida, H.** Mobilization of Rubisco and Stroma-Localized Fluorescent Proteins of Chloroplasts to the Vacuole by an ATG Gene-Dependent Autophagic Process [Text] / H. Ishida, K. Yoshimoto, M. Izumi, D. Reisen, Y. Yano, A. Makino, Y. Ohsumi, M. R. Hanson, T. Mae // *Plant Physiology*. – 2008. – V.148. – P. 142-155.
46. **Jäättelä, M.** Heat Shock Protein 70 Promotes Cell Survival by Inhibiting Lysosomal Membrane Permeabilization [Text] / M. Jäättelä, J. Nylandsted, M. Gyrd-Hansen, A. Danielewicz, N. Fehrenbacher // *JEM*. – V. 200. – P. 425-435.

47. **Jimenez-Del-Rio, M.** The Bad, the Good, and the Ugly about Oxidative Stress [Text] / M. Jimenez-Del-Rio, C. Velez-Pardo // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2012. – V.1. – P. 139-156.
48. **Juhász, G.** Autophagy: a forty-year search for a missing membrane source [Text] / G. Juhász, T. P. Neufeld // *PLoS biology*. – 2006. – V.4. – P.45-63.
49. **Juhász, G.** Direct induction of autophagy by Atg1 inhibits cell growth and induces apoptotic cell death [Text] / G. Juhász, T. P. Neufeld // *Current Biology*. – 2007. – V.17. – P. 1–11.
50. **Kalra, C.** Nitric oxide promotes in vitro organogenesis in *Linum usitatissimum* L. *Plant Cell* / C. Kalra, S. B. Babbar // *Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. – 2010. – V.103. – P. 353-359.
51. Kasukabe, Y. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana* [Text] / Y. Kasukabe, L. He, K. Nada, S. Misawa, I. Ihara, S. Tachibana, S. // *Plant and Cell Physiology*. – 2004. – V.45. – P. 712-722.
52. **Kaushik, S.** Autophagy as a cell-repair mechanism: activation of chaperone-mediated autophagy during oxidative stress [Text] / S. Kaushik, A. M. Cuervo // *Molecular aspects of medicine*. – 2006. – V. 27. – P. 444–454.
53. **Klionsky, D. J.** The Autophagy Connection [Text] / D. J. Klionsky // *Development cell*. – 2010. – V.19. – P. 11–12.
54. **Kroemer, G.** Autophagy and the integrated stress response [Text] / G. Kroemer, G. Mariño, B. Levine // *Molecular cell*. – 2010. – V.40. – P. 280–293.
55. **Kusano, T.** Polyamines: essential factors for growth and survival [Text] / T. Kusano, T. Berberich, C. Tateda, Y. Takahashi // *Planta*. – 2008. – V.228. – P. 367-381.
56. **Legocka, J.** Plastid-associated polyamines: their role in differentiation, structure, functioning, stress response and senescence [Text] / J. Legocka // *Plant Biology*. – V.16. – P. 297-305.
57. **Lemasters, J. J.** The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy [Text] / J. J. Lemasters, A. L. Nieminen, T. Qian, L. C. Trost, S. P. Elmore, Y Nishimura // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 1998. – V.1366. – P. 177-196.
58. **Loyola-Vargas, V. M.** An introduction to plant cell culture [Text] / V. M. Loyola-Vargas, F. Vázquez-Flota // *Plant cell culture protocols*. – 2006. – V.3. – P. 3-8.
59. **Madeo, F.** Can autophagy promote longevity? [Text] / F. Madeo, N. Tavernarakis, G. Kroemer // *Nature cell biology*. – 2010. – V.12. – P. 842–846.

60. **Manjithaya, R.** Unconventional secretion of *Pichia pastoris* Acb1 is dependent on GRASP protein, peroxisomal functions, and autophagosome formation [Text] / R. Manjithaya, C. Anjard, W. F. Loomis, S. Subramani // *JCB*. – V.188. – P. 537-546.
61. **Mapelli, S.** Free and bound polyamines changes in different plants as a consequence of UV-B light irradiation [Text] / S. Mapelli, I. M. Brambilla, N. L. Radyukina, Ivanov, R. Reggiani, V. V. Kuznetsov // *Gen Appl Plant Physiol*. – 2008. – V.34. – P. 55-66.
62. **Marty, F.** Cytochemical studies on GERL, provacuoles, and vacuoles in root meristematic cells of *Euphorbia* [Text] / F. Marty // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1978. – V.75. – P. 852-856.
63. **Maycottea, P.** Autophagy and cancer therapy [Text] / P. Maycottea, A. Thorburna // *Cancer Biology & Therapy*. – 2011. – V.11. – P. 127-137.
64. **Meijer, A. J.** Regulation and role of autophagy in mammalian cells [Text] / A. J. Meijer, P. Codogno // *The international journal of biochemistry & cell biology*. – 2004. – V.36. – P. 2445– 2462.
65. **Menegus, F.** Response to anoxia in rice and wheat seedlings changes in the pH of intracellular compartments, glucose-6-phosphate level, and metabolic rate [Text] / F.Menegus, L. Cattaruzza, M. Mattana, N. Beffagna // *Plant Physiology*. – 1991. – V.95. – P. 760-767.
66. **Mijaljica, D.** Microautophagy in mammalian cells: Revisiting a 40-year-old conundrum [Text] / D. Mijaljica, M. Prescott, R. J. Devenish // *Autophagy*. – 2011. – V.7. – P. 673-682.
67. **Minard, M. N.** Improved measurements of electroweak parameters from Z decays into fermion pairs [Text] / M. N. Minard, D. Decamp, B. Deschizeaux // *Zeitschrift für Physik* – 1992. – V.53. – P. 1-20.
68. **Mittler, R.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [Text] / R. Mittler // *Trends in Plant Science*. – 2002. – V.7. – P. 405-410.
69. **Minocha, R.** Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship [Text] / R. Minocha, R. Majumdar, S. C. Minocha // *Plant polyamines in stress and development*. – 2014. – V.7. – P. 6-13.
70. **Montiller, J. L.** The upstream oxylipin profile of *Arabidopsis thaliana*: A tool to scan for oxidative stresses [Text]/ J.L. Montiller, J.-L. Cacas, M.-H. Montane // *Plant J*. – 2004. – V.40. – P. 439–450.
71. **Moschou, P.** Plant polyaminecatabolism: the state of the art [Text] / P. Moschou, K. Paschalidis, K. Roubelakis-Angelakis // *Plant Signal. Behav*. – 2008. – V.12. – P. 1061–1066.
72. **Ravikumar, B.** Plasma membrane contributes to the formation of pre-autophagosomal structures [Text] / B. Ravikumar, K. Moreau, L. Jahreiss, C. Puri, D. C. Rubinsztein // *Nat Cell Biol*. – 2010. – V.12. – P. 747–757.

73. **Reggiori, F.** The Atg1-Atg13 Complex Regulates Atg9 and Atg23 Retrieval Transport from the Pre-Autophagosomal Structure [Text] / F. Reggiori, K. A. Tucker, E. Stromhaug, D. J. Klionsky // *Developmental Cell*. – 2004. – V.6. – P. 79–90.
74. **Robertson, K. A.** Altered expression of Ape1/ref-1 in germ cell tumors and overexpression in NT2 cells confers resistance to bleomycin and radiation [Text] / K. A. Robertson, H. A. Bullock, Y. Xu, R. Tritt, E. Zimmerman // *Cancer research*. – 2001. – V.61. – P. 2220-2225.
75. **Scandalios J. G.** Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses [Text] / J. G Scandalios // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. – 2005. – V.38. – P. 995-1014.
76. **Schellens, J. H.** Nifedipine: variability in its kinetics and metabolism in man [Text] / J. H. Schellens, D. D. Breimer // *Pharmacology & therapeutics*. – 1989. – V.44. – P. 445-454.
77. **Scherz-Shouval, R.** Reactive oxygen species are essential for autophagy and specifically regulate the activity of Atg4 [Text] / R. Scherz-Shouval, E. Shvets, E. Fass, H. Shorer, L. Gil, Z. Elazar // *The EMBO journal*. – 2007. – V.26. – P. 1749-1760.
78. **Shang, F.** Ubiquitin–proteasome pathway and cellular responses to oxidative stress [Text] / F. Shang, A. Taylor // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2011. – V.51. – P. 5-16.
79. **Shevyakova, N. I.** Phytoremediation potential of *Amaranthus* hybrids: antagonism between nickel and iron and chelating role of polyamines [Text] / N. I. Shevyakova, A. I. Cheremisina, V. V. Kuznetsov // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2011. – V.58. – P. 634-642.
80. **Shi, J.** Comparative proteomics profile of lipid-cumulating oleaginous yeast: an iTRAQ-coupled 2-D LC-MS/MS analysis [Text] / J. Shi, H. Feng, J. Lee, W. N. Chen // *PloS one*. – 2013. – V.8. – P. 356–374.
81. **Shy, G.** Expression patterns of genes encoding endomembrane proteins support a reduced function of the Golgi in wheat endosperm during the onset of storage protein deposition [Text] / G. Shy, L. Ehler, E. Herman, G. Galili // *Journal of Experimental Botany*. – 2001. – V.52. – P. 2387–2388.
82. **Siyiannis, V. F.** Comparative spatiotemporal analysis of root aerenchyma formation processes in maize due to sulphate, nitrate or phosphate deprivation [Text] / V. F Siyiannis, V. E. Protonotarios, B. A. Zechmann, S.N. Chorianopoulou, M. J. Hawkesford // *Protoplasma*. – 2012. – V.49. – P. 671–686.
83. **Sláviková, S.** The autophagy-associated Atg8 gene family operates both under favourable growth conditions and under starvation stresses in *Arabidopsis* plants [Text] / S. Sláviková, G. Shy, Y. Yao, R. Glzman, H.

- Levanony // *Journal of Experimental Botany*. – 2005. – V.56. – P. 2839–2849.
84. **Spadaro, D.** The redox switch: dynamic regulation of protein function by cysteine modifications [Text] / D. Spadaro // *Physiologia plantarum*. – 2010. – V.138. – P. 360-371.
85. **Suzuki, K.** Molecular machinery of autophagosome formation in yeast, *Saccharomyces cerevisiae* [Text] / K. Suzuki, Y. Ohsumi // *FEBS letters*. – 2007. – V.581. – P. 2156–2161.
86. **Tabart, J.** Effect of polyamines and polyamine precursors on hyperhydricity in micropropagated apple shoots [Text] / J. Tabart // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2015. – V.120. – P. 11-18.
87. **Takatsuka, C.** Autophagy in tobacco BY-2 cells cultured under sucrose starvation conditions: isolation of the autolysosome and its characterization [Text] / C. Takatsuka, Y. Inoue, T. Higuchi, S. Hillmer // *Plant and Cell Physiology*. – 2011. – V.52. – P. 2074-2087.
88. **Tanou, G.** Polyamines reprogram oxidative and nitrosative status and the proteome of citrus plants exposed to salinity stress / G. Tanou, V. Ziogas, M. Belghazi, A. Christou // *Plant, cell & environment*. – 2014. – V.37. – P. 864-885.
89. **Thannickal, V. J.** Reactive oxygen species in cell signaling [Text] / V. J. Thannickal, B. L. Fanburg // *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. – 2000. – V.279. – P. 1005-1028.
90. **Toninello, A.** The biological functions of polyamine oxidation products by amine oxidases: perspectives of clinical applications [Text] / A. Toninello, E. Agostinelli, G. Arancia // *Amino acids*. – 2004. – V.27. – P. 347-358.
91. **Toyooka, K.** Cotyledon cells of *Vigna mungo* seedlings use at least two distinct autophagic machineries for degradation of starch granules and cellular components [Text] / K. Toyooka, T. Okamoto, T. Minamikawa // *JCB*. – 2001. – V.154. – P. 973–982.
92. **Tun, N. N.** Polyamines induce rapid biosynthesis of nitric oxide (NO) in *Arabidopsis thaliana* seedlings [Text] / N. N. Tun, C. Santa-Catarina, T. Begum, V. Silveira, W. Handro // *Plant and Cell Physiology*. – 2006. – V.47. – P. 346-354.
93. **Van Breusegem, F.** Reactive oxygen species in plant cell death [Text] / F. Van Breusegem // *Plant Physiol*. – 2006. – V.141. – P. 384–390.
94. **Vranová, E.** Signal transduction during oxidative stress [Text] / E. Vranová, D. Inzé, F. V. Breusegem // *J. Exp. Bot*. – 2002. – V.53. – P. 1227-1236.
95. **Wimalasekera, R.** Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses [Text] / R. Wimalasekera, F. Tebartz, F. E. Günther // *Plant Science*. – 2011. – V. 181. – P. 593–603.

96. **Xie, Z.** Autophagosome formation: core machinery and adaptations [Text] / Z. Xie, D. J. Klionsky // *Nature Cell Biology*. – 2007. – V.9. – P. 1102–1109.
97. **Yen, W. L.** How to Live Long and Prosper: Autophagy, Mitochondria, and Aging // W. L. Yen, D. J. Klionsky // *Physiology*. – 2008. – V.23. – P. 248–262.