

АПОПТОЗ У РАСТЕНИЙ

© 2001 г.

Б. Ф. ВАНЮШИН

*Институт физико-химической биологии им А. Н. Белозерского,
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова,
Москва*

I. Введение. II. Черты апоптоза. III. Каспазный каскад. IV. Гиперчувствительный ответ. V. Окислительный стресс. VI. Митохондрии и апоптоз. VII. Гормональный контроль апоптоза. VIII. Метилирование ДНК и апоптоз. IX. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Жизнь любого многоклеточного организма сопровождается практически ежедневной гибелью в нем многих клеток. В этом могут быть повинны самые разнообразные неблагоприятные факторы и агенты среды, и такая гибель клеток обычно имеет выраженный случайный характер. С другой стороны, судьба многих клеток и даже некоторых отдельных тканей в организме строго предопределена, и их смерть генетически обусловлена, она изначально закодирована в геноме, является обязательным условием и составляющей онтогенеза и реализуется строго на определенном его этапе. Таких примеров в биологии много, и наиболее яркими и хорошо известными из них являются, например, гибель клеток и тканей при эмбриогенезе и морфогенезе животных (утрата хвоста у бесхвостых амфибий, метаморфоз насекомых, дегенерация мышечных тканей и другие). Такую генетически предопределенную гибель клеток уже давно называли нормальной физиологически естественной смертью [7, 19] или запрограммированной гибелью [112] и ее довольно детально исследовали и подробно описали уже относительно давно [1, 4, 71, 157]. Однако, даже до недавнего времени существование запрограммированной гибели клеток (ЗГК) часто не только игнорировали, но иногда и вовсе не признавали, подобно тому как существование биологических часов и генов смерти вообще считались абсурдным. Особенно ярко и отчетливо значение естественной генетически

Принятые сокращения: АБК — абсцизовая кислота; АФК — активные формы кислорода; ВТМ — вирус табачной мозаики; ЗГК — запрограммированная гибель клеток; мтДНК — митохондриальная ДНК; ВНТ — бутилгидрокситолуол.

Адрес для корреспонденции: e-mail: vanyush@genebee.msu.su

контролируемой гибели клеток в регуляции популяций животных клеток и в онтогенезе было продемонстрировано и подчеркнуто в одной из работ английских эмбриологов [100]. В статье детально описаны специфические морфологические черты клеток и тканей, вовлекаемых в этот активный наследственный процесс, названный апоптозом, и показано, что апоптоз как естественная генетически ЗГК является чрезвычайно распространенным феноменом [100]. Термин апоптоз в переводе с греческого означает опадение (подобное опадению лепестков и листьев у растений). Нужно отдавать отчет в том, что наряду с апоптозом как генетически запрограммированной терминальной фазой клеточной дифференцировки у растений, существуют и другие процессы ЗГК, которые происходят под влиянием факторов среды (патогены, химические и физические воздействия [121–128]) в результате активации внутренних механизмов запрограммированного «самоубийства» клетки. Следовательно термин «запрограммированная гибель» выглядит гораздо шире, чем собственно апоптоз.

Наряду с ЗГК существует и запрограммированная гибель целого организма и отдельных органов. В. П. Скулачев предложил называть эти процессы соответственно феноптозом и органоптозом [20]. Феноптоз существует у разных животных и растений. Особенно ярко он проявляется у тихоокеанских лососей (горбуша, нерка и др.) [1, 4, 153]: после выметывания половых продуктов все особи этих видов рыб погибают. Это происходит на фоне резкого увеличения содержания кортикостероидных гормонов [153] и резкого деметилирования ДНК [2] практически во всех тканях гибнущей рыбы. Несомненно, в запуске феноптоза исключительная роль принадлежит половым гормонам: если у нерки удалены гонады, то такая рыба не погибает и продолжительность ее жизни увеличивается в несколько раз [153]. Феноптоз отмечен и в растительном мире: по этому механизму заканчивают в норме жизнь все монокарпические растения, в том числе и злаки [136]. Особенно драматично выглядит феноптоз у растений бамбука (корневищный злак): после единственного и синхронного в жизни цветения и формирования относительно мелких (по отношению к массе растения) семян погибает вся плантация, иногда гигантская, этого растения. Невольно напрашивается мысль о том, что феноптоз у растений подобно феноптозу у животных контролируется гормонами, запускающими гены запрограммированной смерти. Поэтому гормон цветения (идея флоригена принадлежит М.Х. Чайлахяну [23]) или соответствующие комплексы природных регуляторов роста растений, индуцирующих цветение, могут оказаться и гормонами феноптоза. Особый интерес представляет вопрос о соотношении и взаимозависимости феноптоза, органоптоза и апоптоза. Легче всего

было бы выстроить цепочку, например, так: апоптоз — органоптоз — феноптоз. В начале этой цепи В.П.Скулачев помещает еще и митоптоз (запрограммированная гибель митохондрий) [20]. Стрелки в этой цепи намеренно не приведены. Безусловно, обозначенная схема событий иногда выглядит довольно убедительно и обосновано. Так, например, массивный наследственный апоптоз нейронов (болезнь Альцгеймера) — причина гибели всего организма. Предполагается также, что старение и в конечном итоге смерть являются следствием массивного митоптоза и накопления погибших клеток [20, 167]. С другой стороны, связи между этими процессами могут оказаться гораздо сложнее и менее предсказуемыми. На самом деле, не исключено, что органоптоз в одном органе (например, колеоптиль пшеницы) может запускать апоптоз отдельных клеток в другом (лист) и наоборот.

II. ЧЕРТЫ АПОПТОЗА

Несмотря на то, что у растений уже давно подразумевалось существование апоптоза [4], изучение морфологических черт и молекулярных механизмов апоптоза у этих организмов очень сильно отставало и отстает от чрезвычайно интенсивного и всестороннего исследования апоптоза у животных. Во многом это объясняется, во-первых, значительно большим удельным весом мировой биохимии животных по сравнению с биохимией растений вообще и, во-вторых, громадным интересом к клиническим исследованиям апоптоза. Это связано прежде всего с выявлением ключевой роли нарушений апоптоза в проявлениях самых разнообразных и многочисленных заболеваний человека, в том числе и при онкогенезе [62].

До недавнего времени оставалось неизвестным вообще как проявляется апоптоз у растений. Сегодня создается впечатление, что апоптоз у растений довольно сходен с апоптозом у животных [30, 31, 35, 36, 42, 80, 94, 96, 184]. Причем, отдельные важные компоненты апоптозной цепи в животной и растительной клетках довольно часто могут быть даже взаимно заменяемыми [67] вплоть до того, что изолированные растительные ядра могут подвергаться апоптозу в бесклеточной системе из животных клеток [94] и наоборот [209]. В клетках растений *Arabidopsis thaliana* [67], гороха [141] и риса [178] обнаружен ген гомологичный животному гену *dad1* [172], который защищает клетки от апоптоза. Активность этого гена, как и противостояние апоптозу резко уменьшаются при старении растения [67]; это наблюдалось в стареющих лепестках гороха [141] и при обезвоживании семян [67]. После введения этого гена в чувствительные к

температуре мутантные клетки *tsBN7* хомяка, у которых при определенной температуре индуцируется апоптоз, температурного запуска апоптоза у них больше не происходило [67]. Тем самым, растительный белок, как и человеческий белок *dadI*, эффективно предотвращает апоптоз в клетках хомяка. Это свидетельствует о том, что механизмы апоптоза, и, в частности его супрессии, у животных и растений довольно сходны и весьма консервативны. Правда, указывается, что в геноме растений арабидопсиса, по-видимому, имеются два *dad* гена [67].

Тем не менее, сведения об апоптозе у растений все еще очень фрагментарны, а многие черты и факторы этого явления удается обнаруживать в основном по аналогии с апоптогенными факторами, которые уже хорошо известны для животных клеток.

Как и у животных [199], апоптоз у растений сопровождается чередой характерных структурно-морфологических изменений клетки: происходит выраженная конденсация хроматина с последующим распадом ядра [138, 139], клеточная мембрана становится пузырчатой, вся цитоплазма как бы вскипает [68], что называют «пляской смерти» (*dance macabre*) [62], и образуются гигантские вакуоли. В большинстве случаев у растений разрушение тонопласта и вакуолизация цитоплазмы предшествуют разрушению ядра и митохондрий [80, 81]. В цитозоле апоптозных клеток растений отмечено резкое увеличение концентрации Ca^{2+} [55]. В отличие от животных остовы апоптозных растительных клеток, как правило, не исчезают бесследно из-за прочных клеточных стенок, они составляют обычно основу для образования сосудистых пучков [65, 66] и аэренхимы [55] у растений. В клетках интактных растений типичные для апоптозных животных клеток так называемые «апоптозные тела» обычно не выявляются, однако подобные им сферические фрагменты протопластов наблюдаются при старении культуры изолированных растительных клеток [80]. На начальных этапах индукции апоптоза в протопластах табака конденсация хроматина, также как и связывание аннексина V, свидетельствующее о сигнальной функции обращенных наружу остатков фосфатидилсерина, могут быть обратимыми [137]. На ранних этапах апоптоза происходит также разрушение цитоскелета [166]. Обнаружено, что в апоптозных клетках колеоптиля пшеницы вакуолярная мембрана впячивается внутрь вакуоли и увлекает за собой цитоплазму с интактными клеточными органеллами, затем эти выпячивания отшнуровываются, и в результате в вакуоли возникают везикулы (пузырьки) с однослойной вакуолярной мембраной (рис. 1), в которых активно функционируют митохондрии [8, 32]. Тем самым, происходит некое дополнительное обособление определенной части митохондрий от ядра. Эти везикулярные митохондрии интактны, они

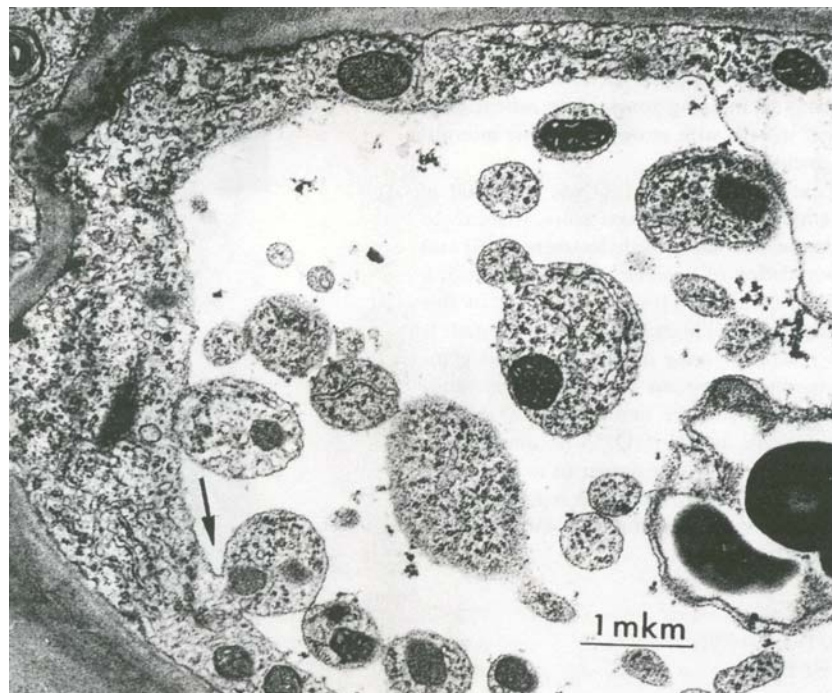


Рис. 1. Апоптотическая клетка паренхимы апикальной зоны coleoptили 8-дневного этилированного проростка пшеницы. Образующийся вакуолярный везикул, содержащий активные митохондрии с интенсивным синтезом мтДНК, показан стрелкой [32].

активно потребляют кислород, по набору цитохромов не отличаются от свободных митохондрий и их главной отличительной чертой является чрезвычайно интенсивный синтез тяжелой ($\rho = 1,718 \text{ г/см}^3$) митохондриальной ДНК (мтДНК) [8, 32]. Смысл такого поведения митохондрий и резкого накопления мтДНК в предсмертной клетке пока еще не ясен. Не исключено, что апоптотический распад хроматина предоставляет ядерный материал для безудержной репликации мтДНК в вакуолярных везикулах. Неизвестна и любопытна дальнейшая судьба этой мтДНК. Может быть, избыточная, образовавшаяся при апоптозе мтДНК как-то способна переходить в соседние клетки. Значительное увеличение содержания мтДНК и массы митохондрий на фоне остановки репликации яДНК происходят также при старении животных и человека [110]. Отмечено, что при инкубации *in vitro* в присутствии H_2O_2 количество мтДНК в фибробластах человека и масса митохондрий увеличиваются в зависимости от концентрации H_2O_2 [110].

Заметная апоптозная деградация хроматина происходит ступенчато под действием индуцированных, в частности каспазами (см. ниже), эндонуклеаз, которые сначала атакуют хроматин в областях относительно протяженных розеточных петель (доменов) с высвобождением крупных 50-300 kb фрагментов. Это отчетливо наблюдалось у растений табака при гиперчувствительном ответе на инфекции [125, 128], при апоптозе клеток эндосперма в развивающейся зерновке кукурузы и пшеницы [207] и при холодовом стрессе в ВУ-2 клетках табака [104]. Затем наступает черед межнуклеосомной фрагментации ДНК, крупные фрагменты хроматина атакуются эндонуклеазами в области межнуклеосомных спейсеров, которые по сравнению с ассоциированной с октамерами гистонов нуклеосомной ДНК более доступны действию эндонуклеаз. В результате высвобождаются фрагменты хроматина с длиной ДНК в них около 180 пар нуклеотидов. Это происходит в стареющем колеоптиле пшеницы (рис. 2) [9, 14], в эндосперме формирующейся зерновки кукурузы и пшеницы [207], в эндосперме семян клеверины при прорастании [160], в культуре стареющих клеток моркови [114, 118], в стареющих растениях арабидопсиса [43], при ксилогенезе [179] и дифференцировке сосудистых элементов у разных растений, в том числе у растений циннии и ее клеточных культур [35, 65, 66, 81, 196], в семядолях огурца после теплового шока [33], в клетках табака при холодом стрессе [104], в алейроновом слое ячменя при прорастании [38, 194], в развивающихся пыльниках ячменя [193], при старении плодolistика у гороха [141, 142], при действии викторина на растения овса [134], при индуцированном опылении старении лепестков петунии [203] и под влиянием разных патогенов у самых различных растений [124, 125, 192]. При электрофоретическом разделении в агарозном геле такая ДНК выглядит в виде некоей лестницы (см. рис. 2). При некрозе такая лестница не обнаруживается: в некротических клетках и тканях ДНК очень быстро и хаотично деградирует. Выявление такой лестницы является одним из наиболее надежных способов обнаружения и доказательства апоптоза. Существуют и другие, в том числе и цитологические методы обнаружения апоптозной деградации (фрагментации) ДНК. В частности, для этой цели широко используется так называемая TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling) процедура [103, 139, 175]. В ее основе лежит флуоресцентное мечение высвобождающихся при деградации ДНК множественных 3'-ОН концов. Однако, довольно часто бывает так, что по характерной измененной морфологии клетка явно подвержена апоптозу, а TUNEL-процедура его не выявляет. Это зависит от стадии апоптоза; если он зашел уже довольно далеко, гидролиз ДНК может происходить с образованием 5'-ОН и 3'-фосфатных концов, которые

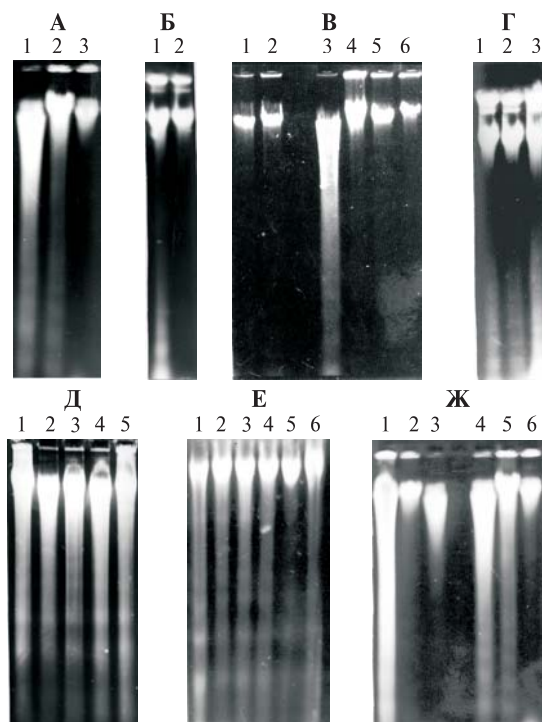


Рис. 2. Электрофореграммы ДНК выделенной из coleоптилей (листьев) этилированных проростков пшеницы.

А — ДНК из coleоптилей контрольных проростков различного возраста: 1) 8-дневные проростки; 2) 6-дневные проростки; 3) 4-дневные проростки.

Б — ДНК из первого листа контрольных 8-дневных проростков. 1) апикальная часть листа; 2) базальная часть листа.

В — ДНК из coleоптилей: 1) 4-дневных проростков пшеницы, выросших в присутствии 50 мг/мл антиоксиданта (ВНТ); 2) 6-дневных проростков, выросших в присутствии 50 мг/мл ВНТ; 3) контрольных 8-дневных проростков, выросших в воде; 4) 8-дневных проростков, выросших в присутствии 1 мг/мл ВНТ; 5) 8-дневных проростков, выросших в присутствии 10 мг/мл ВНТ; 6) 8-дневных проростков, выросших в присутствии 50 мг/мл ВНТ.

Г — ДНК из coleоптилей 8-дневных проростков, выросших в присутствии 1) 10^{-5} М 3,5-ди-*трет*-бутилтолуола; 2) 10^{-5} М аскорбиновой кислоты (аскорбат натрия); рН 5,5; 3) контроль (проростки выращены в тех условиях в воде).

Д — ДНК из coleоптилей интактных 8-дневных проростков, выросших в воде (1, контроль) или в течение последних шести дней росших в присутствии 10^{-5} М; 2) гиббереллина (GA_3); 3) 6-бензиламинопурина; 4) 2,4-Д и 5) фузикококцина С.

Е — ДНК из coleоптилей срезанных проростков. 1, 2, 3, 4, 6 — 6-дневные проростки, выросшие в воде, срезаны и проинкубированы в течение 48 ч в присутствии 10^{-5} М фитогормонов таких, как 1) АБК; 2) ауксин 2,4-Д; 3) 6-бензиламинопурина; 4) гиббереллин. 5) ДНК из coleоптилей интактных 8-дневных проростков, выросших в воде (контроль); 6) ДНК из coleоптилей 6-дневных контрольных проростков, которые после среза еще инкубировали в воде в течение 48 ч.

Ж — ДНК из coleоптилей проростков пшеницы, выросших в присутствии 100 мкг/мл 5-азациитидина (1, 2, 3) или в воде (4, 5, 6). Возраст проростков 8 дней (1, 4), 6 дней (2, 5) и 4 дня (3 и 6).

не обнаруживаются этим методом. С другой стороны, на определение апоптоза этим методом могут накладываться и неиндуцированные апоптозом односторонние разрывы (дефекты) ДНК, часто множественно возникающие при воздействии разных факторов на клетку и подвергающиеся обычно последующей репарации. Поэтому, как правило, наиболее надежно апоптоз детектируется путем оценки общей цитологической и биохимической картины с выявлением специфических маркеров апоптоза, среди которых межнуклеосомная фрагментация ДНК занимает ведущее место. В отличие от некоторых обратимых начальных стадий апоптоза у растений [137], такая фрагментация ДНК является уже одной из терминальных и необратимых стадий апоптоза, за которой следует дальнейшая быстрая, уже относительно неспецифическая и глубокая деградация ДНК нуклеазами. Как и у животных, при апоптозе у растений сильно активируются разные «терминальные» ДНК-азы, атакующие как одно- так и двусторонние участки ДНК и активируемые Ca^{2+} [203], содержание которого в апоптозных клетках растений обычно значительно увеличивается. Выделены и описаны сДНК, кодирующие ДНК-азы, которые принимают участие в терминальной деградации ДНК в эндосперме ячменя и во время превращения мезофильных клеток циннии в сосудистые структурные элементы [29]. Предполагается, что с одной стороны, такая интенсивная деградация ДНК необходима и важна для того, чтобы «неправильная» ядерная ДНК из апоптозной клетки уже не могла быть перенесена в другие клетки, а с другой стороны, это служит эффективным путем использования пластического (нуклеинового) материала другими нормально функционирующими клетками в развивающихся органах (тканях) растения.

Запуск апоптоза в растениях контролируется самыми различными факторами и зависит от функционального (физиологического) состояния растения. В частности, иногда апоптоз в клеточной культуре вызывается добавлением среды из под старых клеток того же или иного вида растения [114]. У растений, как и у животных, на клеточной мембране имеются соответствующие рецепторы, воспринимающие сигналы к апоптозу. Определенная роль в запуске апоптоза признается за арабиногалактановыми белками [159]. Например, так называемый (β -D-галактозил)₃ реактив Ярива, связывающийся с обогащенными оксипролином сильно гликозилированными арабиногалактановыми белками растений, индуцирует типичный апоптоз в суспензии клеток арабидопсиса [68]. Индуцированный при этом апоптоз выявлен по характерным цитологическим признакам, появлению свободных 3'-ОН групп в ДНК хроматина (TUNEL-метод) и по межнуклеосомной фрагментации ДНК [68]. Таким образом, арабиногалактановые белки на границе клеточная мембрана—клеточная

стенка могут как-то участвовать в индукции апоптоза у растений. Одним из возможных триггеров апоптоза у растений при ксилогенезе может, по-видимому, выступать ген *ted2* [51], кодирующий хиноновую оксидоредуктазу. Найдены гены, отвечающие за апоптоз женских клеток при формировании мужских соцветий кукурузы [50], один из таких генов кодирует сходный с *Ts2* белок, участвующий в образовании стероидов, которые могут служить сигнальными молекулами для апоптоза при половой дифференцировке клеток.

На наш взгляд, очень удобной и доступной моделью для изучения апоптоза служат проростки злаков. Прежде всего, относительно просто добиться синхронного прорастания зерновок и роста этих проростков. В силу известного интеркаляционного роста у злаков в отличие от большинства других (в том числе двудольных) растений удастся препаративно в большом количестве вычленить собственно зоны деления и легко отделить молодые делящиеся меристематические клетки в базальной области органа (лист, coleoptиль) от стареющих и уже неделящихся клеток проксимальной зоны. Синтез (репликация) ДНК в массе проростков при определенных условиях протекает синхронно [16], так что на начальных этапах роста пшеницы у интактных проростков удастся выделить несколько циклов репликации ДНК, которые сопровождаются каждый раз удвоением содержания ДНК на орган (рис. 3) и собственно отражают прохождение клеточных циклов в меристематической зоне первого листа и coleoptиля [16]. В принципе эта модель уникальна для биохимика тем, что в терминах синтеза ДНК она позволяет рассматривать целый интактный растительный организм практически как одну клетку и позволяет с использованием всей массы проростка(ов) детально и надежно исследовать, что происходит с ДНК, в том числе и с ее метилированием, в клеточном цикле [10, 12]. Можно видеть (рис. 3), что в отличие

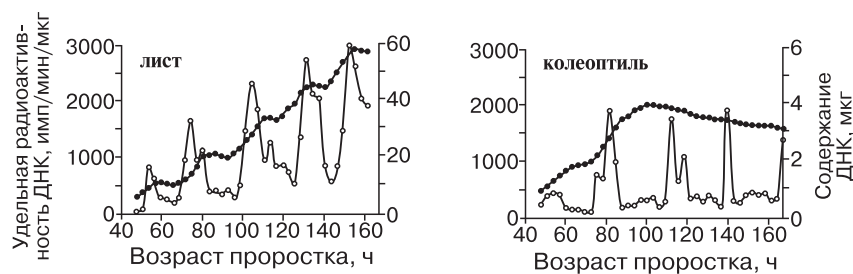


Рис. 3. Содержание и удельная радиоактивность ДНК в листе и coleoptиле развивающегося этиолированного проростка пшеницы.

Линия из черных кружков — количество ДНК на орган, линия из пустых кружков — удельная радиоактивность [16].

от первого листа, прирост ДНК в колеоптиле на пятый день жизни этиолированного проростка пшеницы полностью прекращался. Это явно указывало на существование в программе развития колеоптиля исключения синтеза (репликации) ядерной ДНК ($\rho = 1,700 \text{ г/см}^3$), что является обязательным этапом органоптоза. При этом в колеоптиле продолжается синтез лишь митохондриальной ДНК с плавучей плотностью $\rho = 1,718 \text{ г/см}^3$ [8, 11, 13, 15], представленной миникольцевыми молекулами разной контурной длины [102], эта ДНК в отличие от ядерной лишена 5-метилцитозина, но зато она содержит N⁶-метил-аденин [185]. В это же время (на шестой день жизни проростка) в колеоптиле всегда обязательно начинается апоптозная фрагментация ядерной ДНК (см. рис. 2). Эта закономерность выявлена в колеоптилях разных сортов пшениц. Любопытно, что в это же время начинается апоптозная фрагментация ДНК и в проксимальной зоне первого листа, где деление клеток и репликация ДНК в отличие от базальной зоны с меристематическими клетками уже не происходят. Таким образом, запрограммированная гибель колеоптиля, старение и последующее отмирание первого листа у проростков пшеницы осуществляются путем апоптоза. Старение листьев у других растений (двудольные) также происходит с участием апоптоза [206]. Апоптоз выявлен в мезофильных клетках стареющих листьев растений *Philodendron hastatum*, *Epipremnum aureum*, *Bauhinia purpurea*, *Delonix regia* и *Butea monosperma*; в молодых зеленых листьях этих же растений апоптоз не обнаруживается [206].

До сих пор неясно передается ли апоптозный сигнал от клетки к клетке и как это осуществляется. Недавно описан новый ген *H52* у растений томатов, который, кодирует некий фактор транскрипции белок *HD-Zip* и, по-видимому, контролирует распространение апоптозного сигнала в листьях растения [117]. Подавление экспрессии этого гена приводит к разрегулировке контроля за распространением апоптоза. В отличие от контрольных у растений с репрессированным *H52* геном апоптоз не ограничивается отдельными клетками, а захватывает весь лист, причем, это сопровождается активацией патоген-зависимых генов, сильным увеличением количества этилена и салициловой кислоты [117].

III. КАСПАЗНЫЙ КАСКАД

У нематоды *Caenorhabditis elegans* ЗГК контролируется несколькими генами, в том числе *ced-3* и *ced-9*. Гены *ced-3* и *ced-4* провоцируют, а гомологичный *Bcl-2* гену млекопитающих ген *ced-9* ингибирует клеточную гибель [87]. Ген *ced-3* кодирует цистеиновую протеазу,

гомологичную другим, более 10 животным цистеиновым протеазам, называемым каспазами. Эти ферменты обладают почти абсолютной специфичностью к остатку аспарагиновой кислоты в белках (пептидах) и содержат в активном сайте относительно консервативный мотив *Gln-Ala-Cys-X-Gly* ($X = Arg, Gln$ или Gly) [198]. Все они синтезируются в виде неактивных предшественников, которые в индуцированных к ЗГК клетках подвергаются протеолизу и собираются в активный гетеродимер, состоящий из двух цепей с молекулярной массой соответственно примерно 20 и 10 кДа. Предполагается, что инициаторная каспаза-8 с длинным предоменом активирует эффекторные каспазы 3, 6 и 7, запуская весь каскад каспаз, атакующих самые различные субстраты в животной апоптозной клетке [46, 61]. Так, например, каспаза-3 расщепляет протеинкиназу С, ДНК-зависимую протеинкиназу и другие белки. На клеточной мембране имеются рецепторы, которые связываются с соответствующими лигандами «смерти», в результате активируются каспазы [31]. В качестве таких рецепторов служат белки семейства фактора некроза опухолей (TNF), *Fas*, TNFR1 и другие. Один из доменов белка *Fas* взаимодействует с DD (death domain) адаптера FADD (*Fas-associated death domain protein*). FADD имеет также эффекторный домен (DED), который связывается с DED каспазы-8; в результате формируется сигнальный комплекс DISC (death-inducing signalling complex) и активируется каспаза-8. Каспаза-8 может также расщеплять *Bid* (белок из семейства *Bcl*). В запуске апоптоза, индуцируемого различными химическими агентами, главная роль принадлежит каспазе-9 [173]. Таким образом, у каспаз 8 и 9 имеются специфические домены, которые связываются с соответствующими доменами клеточных адапторных молекул, в результате чего каспазы активируются.

Работы Эрика Лема одними из первых показали, что каспазы имеются и у растений [47, 108]. Каспазная протеолитическая активность найдена в листьях растений табака при инфекции ВТМ [47]; установлено, что синтетические пептидные ингибиторы животных каспаз могут подавлять индукцию апоптоза авирулентными бактериями при введении этих ингибиторов в листья табака вместе с бактериями. При этом несколько ответственных за апоптоз генов ингибируются, а индукция генов собственно патоген-зависимых белков не нарушается. Тем самым, установлено, что сигнал типа патоген-растение не исчезает и активация защитных генов происходит независимо от генов смерти [47]. Экспрессия генов ингибиторов каспаз (*p35*, бакуловирусные гены и другие) в трансгенных растениях предотвращает вызываемую гиперчувствительным ответом гибель клеток [108]. Сходная с каспазной активность выявлена недавно в клет-

ках кукурузы [83]. В результате экспрессии животных генов *Bcl-xL* и *Ced-9* индукции апоптоза ультрафиолетовым светом и патогенами в клетках растений табака не происходит [120]. С другой стороны, экспрессия в клетках табака гена проапоптозного регулятора *Bax* животного происхождения сопровождается типичным гиперчувствительным ответом с образованием в них патоген-зависимых белков и с апоптозной гибелью клеток [107]. Из клеток растений риса и арабидопсиса выделен ген *OsBI-1* [96] — гомолог известного гена *BI-1* (*Bax inhibitor-1*), который ингибирует *Bax*. сДНК *OsBI-1* (*Oryza sativa BI-1*) препятствует гибели клеток дрожжей, индуцируемой животным *Bax* геном [96]. Кодированные растительным и животным *BI-1* геном белки по аминокислотной последовательности гомологичны примерно на 45%. Все это указывает на существование у растений и животных общих эволюционно консервативных механизмов (генов) запуска и защиты от индуцируемого апоптоза. Аналогичный ген (*AtBI-1*) найден и у растений *Arabidopsis thaliana* [156]. Экспрессия *AtBI-1* быстро возрастает при раневом поражении растения или при разных инфекциях, что указывает на существенную роль этого гена в ответе растительного организма как на биотический, так и абиотический стресс. При экспрессии *BI* гена в клетках *E. coli* было выявлено, что *Bax* ингибирующий белок обладает глутатион-S-трансферазной (GST) и небольшой глутатионпероксидазной (GPX) активностью, он вызывает уменьшение количества фосфолипидов, снижает мембранный потенциал митохондрий и изменяет внутриклеточный окислительно-восстановительный потенциал [95]. При коэкспрессии генов белков *BI-GST/GPX* содержание глутатиона и мембранный потенциал митохондрий в клетках дрожжей нормализуются и устойчивость клеток к перекиси водорода резко возрастает. На основании этих данных делается вывод о том, что в индуцированной *Bax* гибели клеток дрожжей и растений окислительный стресс играет исключительную роль [95]. При поражении растений коровьего горошка ржавчинными грибами в клетках растения активируются многие различные цистеиновые протеазы, среди которых явно выявлены и такие, которые по специфичности действия (узнавание в субстратных белках *Asp* остатков) [56] сходны с животными каспазами.

Наряду с каспазами апоптоз у растений может контролироваться и другими цистеиновыми и сериновыми протеазами. Так, в результате экспрессии гена ингибитора цистеиновой протеазы цистатина в культуре клеток сои индуцируемый активными формами кислорода (АФК) или бактериями (*Pseudomonas syringae pv glycinea*) апоптоз подавляется [169]; к тому же известно, что ингибитор сериновых протеаз (AEBSF), а не ингибиторы каспаз угнетает индукцию апоптоза

ксиланазой в культуре клеток табака [205]. Предполагается, что ЗГК у растений в значительной мере контролируется соотношением между цистеиновыми протеазами и их ингибиторами, а гены ингибиторов протеиназ могут модулировать ЗГК [169]. При прорастании семян клещевины (*Ricinus communis*) через 3–5 дней в клетках эндосперма формируются и накапливаются небольшие органеллы рициносомы, которые выявляются с помощью антител к цистеиновой эндопротеазе [160]. Ко времени выраженной апоптозной деградации в ядре из рициносом в цитоплазму апоптозных клеток выделяется цистеиновая эндопротеаза с С-концевой последовательностью KDEL, активируемая в результате специфического расщепления пропептида. Гомологичные протеазы обнаружены также в стареющих тканях у других растений, в том числе, в лепестках лилии (красноднев) [160]. Экспрессия гена цистеиновой протеиназы совпадает с проявлением апоптоза в различных органах растения *Solanum melongena*; в частности, это происходит при старении листьев и пыльника, созревании плодов и при ксилогенезе [202]. Эта цистеиновая протеиназа (SmCP) на 90–92% гомологична по аминокислотной последовательности с цистеиновыми протеиназами табака (CYP-8) и томатов (LCYP-2), которые относят к обычным протеиназам старения. Экспрессия гена протеиназы SmCP резко усиливается при старении листьев, созревании плодов и во время формирования цветка. При выращивании в присутствии относительно селективного ингибитора тиоловых протеаз E-64 старение растений заметно тормозится и продолжительность их жизни увеличивается [136].

Известно, что в животных клетках апоптоз может запускаться керамидами, которые наряду с фосфохолином образуются под влиянием TNF-активируемых сфингомиелиназ из мембранного фосфолипида сфингомиелина [154]. Эти фосфолипиды и их производные найдены также в растительных клетках и, по-видимому, керамиды могут контролировать апоптоз и у растений: установлено, что сфинганиновые аналоги фитотоксинов эффективно модулируют апоптоз в растительных клетках [70].

IV. ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ ОТВЕТ

Помимо апоптоза, связанного с нормальным развитием растений, ЗГК у них может наступить в ответ на ту или иную инфекцию. Несмотря на то, что при этом запускаются механизмы гибели клеток сходные с апоптозом, эту «запрограммированную» гибель клеток все-таки не отождествляют с апоптозом [146, 147, 161]. На самом деле, у растений мы имеем дело с разными формами ЗГК, одна из них

реализуется как обязательная программа развития и старения, а другая проявляется при гиперчувствительном ответе при разных инфекциях [48, 69, 70, 77, 78, 85, 131, 145, 184]. Такая индуцированная патогеном локализованная гибель клеток может выполнять существенную защитную функцию, поскольку с гибелью индивидуальной клетки нарушается транспорт патогена и системная инфекция по растению может блокироваться. Кроме того, погибающие в результате индуцированной патогеном ЗГК клетки способны индуцировать старение в соседних клетках, что представляет собой как бы второй барьер на пути инфекции [146, 147]. Хотя во многом пути этих двух форм ЗГК пересекаются и во многом скоординированы, активация маркеров (*hin 1* и *hsr203j*) ЗГК при гиперчувствительном ответе и при онтогенезе (старении) (*sag12*) довольно различна. Эти маркеры довольно специфичны для программ разной ЗГК. Получены мутанты растений арабидопсиса, у которых устойчивость к патогену не сопровождается апоптозом, как это происходит у растений дикого типа. Так, в клетках растений с мутацией в *DND1*-локусе индуцируемый инфекцией апоптоз не происходит, а патоген-зависимые гены транскрибируются, обеспечивая растению устойчивость к разным грибным, бактериальным и вирусным инфекциям [208]. У таких мутантных растений конститутивно значительно увеличено содержание салициловой кислоты и мРНК патоген-зависимых генов [208].

При заражении растений табака ВТМ в клетках растения развивается запрограммированная гибель, которая по многим параметрам напоминает апоптоз у животных. При этом происходят конденсация и вакуолизация цитоплазмы и расщепление ядерной ДНК с высвобождением довольно крупных (около 50 kb) фрагментов, а типичной межнуклеосомной фрагментации ДНК, заметной конденсации хроматина по периферии ядра и образования апоптозных тел не отмечено [128]. Это происходит на фоне значительного увеличения ДНК-азной активности [124, 125] с появлением нескольких особых ДНК-аз [124]. Эти нуклеазы не индуцируются при старении, при абиотическом стрессе или под влиянием салициловой кислоты, они стимулируются Ca^{2+} и ингибируются EGTA, EDTA и Zn^{2+} [124]. При заражении растений табака ВТМ отмечается индукция аскорбатпероксидазы (важный инактивирующий H_2O_2 фермент) за счет усиления транскрипции гена, кодирующего этот белок [126]. Экспрессия этого гена уменьшается при низком парциальном давлении кислорода, а салициловая кислота не влияет на эту индукцию при инфекции ВТМ [126].

У температуро-чувствительных мутантов табака индукция апоптоза сопровождается активацией серин/треониновых протеинфос-

фатаз (на ранней стадии апоптоза сильно активируется протеинфосфатаза типа 1) [58]. Ингибитор этих фосфатаз — оадаевая кислота — уменьшает интенсивность гиперчувствительного ответа и предотвращает индуцируемый апоптоз у этих мутантов [58].

Яркой отличительной особенностью гиперчувствительного ответа при инфекции растений табака ВТМ является увеличение количества мономерной хлоропластной ДНК, причем это происходит еще до появления заметных изменений структуры ядра и расщепления хроматина [128]. По-видимому, резкое увеличение образования цитоплазматических ДНК на фоне начинающихся дегенеративных изменений в ядре вообще является одним из ранних характерных признаков ЗГК у растений. Так, мы наблюдали суперпродукцию тяжелой митохондриальной ДНК при старении и апоптозе у самых разных растений [11, 13, 15, 102] и предложили считать это явление характерным признаком апоптоза.

При бактериальной инфекции в растениях табака и томатов индуцируется транскрипция *hsr203J* гена, она коррелирует с гиперчувствительным ответом и генетически запрограммированной гибелью клеток. Активация гена бактериальным элиситором довольно специфична: другие известные потенциальные индукторы (перекись водорода, салициловая кислота, метилжасмонат, 2,6-дихлоризоникотиновая кислота) не увеличивают активность гена, однако он может запускаться тяжелыми металлами и его экспрессия служит маркером ЗГК, вызываемой не только патогенами, но и некоторыми другими агентами (факторами) [147].

Установлено, что индуцирующий апоптоз в клетках растений овса грибной токсин викторин связывается с митохондриальной декарбоксилазой глицина и инактивирует этот фермент. Это дополнительно указывает на участие митохондрий в индукции ЗГК [134]. Причем эффективность действия патогена часто зависит от концентрации этилена. Замечено, что при инкубации клеток злаков в присутствии агробактерий, используемых обычно для эффективной трансформации двудольных, клетки кукурузы довольно часто погибают. Их гибель по наблюдаемой цитологической картине и по межнуклеосомной фрагментации ДНК сильно напоминает апоптоз [83]; при экспрессии в клетках антиапоптозных генов *p35* (продукт этого гена прямо инактивирует каспазу) и *iap* (этот ген ингибирует процессинг каспазы) гибели кукурузных клеток под действием агробактерии не происходит. У растений табака фенотип индуцированной *Vax* клеточной гибели очень похож на гиперчувствительный ответ, вызываемый вирусом табачной мозаики дикого типа у растений табака с *N* геном [107]; индуцируемая *N* геном и *Vax* гибель клеток табака блокируется

окадаевой кислотой, которая, как известно, ингибирует протеин-фосфатазную активность.

Существенную роль в регуляции гиперчувствительного ответа клеток играет салициловая кислота [57, 79, 144, 152, 163]. Так, например, показано, что спонтанная гибель клеток у трансгенных растений арабидопсиса подавляется в результате экспрессии гена бактериальной салицилатгидроксилазы, которая превращает салициловую кислоту в катехол [195]. Салициловая кислота необходима для индукции патоген-зависимой гибели клеток у разных мутантов растений арабидопсиса [162], в том числе и ЗГК у мутанта *acd6* с увеличенной устойчивостью к бактериальным патогенам [150].

Кальций играет очень важную роль в регуляции гибели клеток при гиперчувствительном ответе [69, 144, 152]. Индуцируемая патогенами ЗГК и устойчивость ко многим инфекциям у трансгенных растений табака сильно увеличиваются при экспрессии двух особых изоформ кальмодулина сои, кодируемых генами *ScaM4* и *ScaM5* [86]. При этом, активность этих генов не зависит от содержания салициловой кислоты в клетках. Иными словами, у растений существуют также неиндуцируемые салициловой кислотой и независимые от нее пути ЗГК. С другой стороны, устойчивость растений к различным патогенам в существенной мере зависит от окислительного статуса в растительных клетках [109, 183]. Установлено, что ЗГК при гиперчувствительном ответе растения на действие элиситора патогенной природы может быть связана с изменением функции митохондрий. Так, например, продуцируемый бактерией *Erwinia amylovora* элиситор харпин вызывает уменьшение образования АТФ в клетках культуры табака [200]. Ингибирование образования АТФ начинается сразу же после добавления харпина в культуру клеток и предшествует ЗГК, индуцируемой этим элиситором. В отличие от салициловой кислоты харпин существенно не влияет на дыхание клеток, однако у обработанных харпином клеток резко увеличивается чувствительность к ингибиторам альтернативных оксидаз (салицилгидроксамовая кислота, *n*-пропилгаллат). Харпин угнетает цитохромный транспорт электронов в митохондриях, что сопровождается ингибированием синтеза АТФ. Поэтому быстрое выключение харпином функций митохондрий может служить причиной индуцированной этим элиситором ЗГК [200].

V. ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

Растения практически постоянно подвергаются сильному кислородному воздействию. Вследствие того, что процесс фотосинтеза является окисленным, концентрация молекулярного кислорода в листьях может достигать примерно 250 мМ, значительная доля

превращается в активные формы кислорода (АФК) [158]. АФК играют существенную роль в запуске запрограммированной гибели клеток [72, 91, 92], в том числе и в ответ на различные инфекции, которые сопровождаются резким увеличением окислительного статуса растения с одновременной индукцией синтеза патоген-зависимых белков [123, 180, 197]. Тем самым, возникающие при инфекции АФК запускают в работу защитные механизмы растительного организма и одновременно могут вызвать ЗГК. Правда, эти процессы иногда могут быть и разобщены. Наряду с увеличением образования АФК в зараженных клетках резко подавляется активность аскорбатпероксидазы и каталазы. Оказалось, что трансгенные растения табака с реализованными антисмысловыми конструкциями генов этих ферментов суперчувствительны к бактериальным патогенам, в их клетках запуск ЗГК в отличие от контрольных растений отмечается при очень низких концентрациях патогена [123]. При индуцированном ВТМ апоптозе в клетках растений табака резко подавляется экспрессия аскорбатпероксидазы на посттранскрипционном уровне. Несмотря на то, что на фоне увеличенного содержания H_2O_2 при апоптозе уровень транскриптов гена аскорбатпероксидазы в клетках табака возрастает, собственно количество самого этого ферментного белка уменьшается [122]. Предполагается, что индуцируемый вирусом апоптоз в клетках табака сопровождается супрессией аскорбатпероксидазы на уровне элонгации трансляции. Это приводит к накоплению перекиси водорода, ускоряющей апоптоз [122].

H_2O_2 служит одним из главных сигналов регуляции клеточного цикла и ЗГК у растений, в том числе и при различных стрессах, раневых повреждениях и инфекциях. В частности, у растений арабидопсиса H_2O_2 активирует участвующие в индукции стресс-зависимых генов специфические митоген-активируемые протеинкиназы [105], одна из которых выключает действие ауксина. Таким образом, окислительный стресс может приводить к инактивации определенных гормональных сигналов. На самом деле, у растений выявлен целый каскад из разных семейств митоген-активируемых протеинкиназ (МАП-киназы), которые вовлечены в передачу сигналов при осмотическом стрессе, раневом повреждении и запуске апоптоза [115].

H_2O_2 запускает синтез многих патоген-зависимых белков у растений табака, а также синтез этилена и салициловой кислоты [45]. При низком парциальном давлении кислорода заметно уменьшается индуцируемая патогенами ЗГК [127]. С другой стороны, индукция патоген-зависимых генов и ЗГК у трансгенных растений индуцируются при экспрессии гена глюкозооксидазы [98] или при ингибировании эндогенной каталазы [45]. При интенсивном световом режиме

выращивания трансгенных растений табака с транскрипцией анти-смысловых конструкций гена каталазы наблюдаемая индукция ЗГК и увеличение устойчивости к патогенам, по-видимому, обусловлены образующейся H_2O_2 [45]. Хотя действие перекиси водорода на экспрессию разных генов у растений имеет явно выраженный системный характер, при сублетальных дозах активных форм кислорода преимущественно реализуются гены устойчивости к патогенам без существенной индукции генов ЗГК [45]. У растений [99, 181], как и у животных, NADPH-оксидаза участвует в образовании АФК. Небольшой ГТФ-связывающий белок *rac* (ген *rac* кодирует ГТФ-азу) регулирует растительную NADPH-оксидазу и индукцию ЗГК у растений [97]. При экспрессии гена *OsRac1* в трансгенных клетках риса в них подавляются образование АФК и индукция ЗГК каликулином А (ингибитор протеиновой фосфатазы I) и патогенным грибом возбудителем пирикулярноза риса [97]. Этот ген индуцирует гибель клеток риса [97].

Образующаяся в результате индукции бактериальным элиситором харпином перекись водорода в клетках или просто экзогенная H_2O_2 индуцируют апоптоз в суспензионной культуре клеток арабидопсиса [52]. При этом индуцируется и экспрессия генов защитных от патогена белков, в том числе таких, как фенилаланинаммоний-лиаза (PAL), глутатион-S-трансфераза (GST) и антранилатсинтаза (ASA1), которая участвует в образовании фитоалексина в клетках арабидопсиса. H_2O_2 индуцирует экспрессию PAL1 и GST, но не ASA1 [52]. Супероксид накапливается в клетках *lsd1* мутантов растений арабидопсиса и запускает их апоптоз [92]. У арабидопсиса выявлен зависимый от АФК ген *isd1* негативного контроля за индуцированным патогеном апоптозом, этот ген кодирует белок, который скорее всего является фактором транскрипции [53].

H_2O_2 стимулирует быстрый приток Ca^{2+} в клетки сои, что активирует программу их физиологической смерти с характерной для апоптоза картиной: расщепление ДНК с высвобождением фрагментов длиной примерно 50 kb, пузырчатость и конденсация ядра [111]. Таким образом, при окислительном стрессе Ca^{2+} является своеобразным сигналом для активации апоптоза в растительных клетках. Это совпадает с известными данными о том, что в животных клетках Ca^{2+} выполняет роль вторичного проапоптозного сигнала [113, 135].

Мы обнаружили, что в этиолированных проростках пшеницы происходит циклическое образование супероксида [25], эта цикличность хорошо совпадает с циклами репликации ДНК. Образование супероксида, по-видимому, во многом контролирует рост клеток растяжением: при инкубации проростков в присутствии антиоксиданта ВНТ заметного подавления репликации ДНК не происходит,

однако деление клеток и их рост растяжением сильно подавлены, у этиолированных проростков действие ВНТ имеет резко выраженный ретардантный характер [24, 25]. Все это согласуется с известным представлением о том, что АФК могут приводить к нарушению клеточных циклов и вызывать гибель клеток [151]. При инкубации проростков пшеницы в присутствии ВНТ (5-50 мг/л) в колеоптилях на фоне резко пониженного содержания супероксида [25] апоптотная фрагментация ДНК блокируется полностью (см. рис. 2), аскорбиновая кислота таким действием не обладает. Скорее всего, в отличие от ВНТ лишенная должной гидрофобности аскорбиновая кислота не может достаточно эффективно проникать через мембраны митохондрий и пластид и нейтрализовать образующиеся в них АФК. Замечено также, что в отличие от аскорбиновой кислоты аналог ВНТ бутилгидроксианизол предотвращает апоптоз животных клеток, вызываемый TNF-фактором [63]. Таким образом, антиоксиданты могут эффективно контролировать рост и развитие растений, отодвигая ЗГК. Любопытно, что в корнях этиолированных проростков пшеницы ионол индуцирует интенсивное образование пигментов каротиноидной природы [24], которые сами по себе являются мощными природными антиоксидантами. Обычно запуск генов, участвующих в образовании каротиноидов, происходит под влиянием АФК и осуществляется в пластидах листа [41]. При инкубации растений перца в растворе скевенджера свободных радикалов образование Grp и Ccs мРНК резко подавляется и в тканях растения сильно уменьшается количество кетокаротиноидов капсантина и капсорубина [41]. Мы же, наоборот, наблюдали, что ВНТ может выступать в качестве мощного индуктора образования каротиноидов и соответствующих пластид в корнях этиолированных проростков пшеницы [24]. Все это указывает на то, что окислительный статус в клетках растения является мощным фактором регуляции синтеза каротиноидов и дифференцировки пластид, в том числе и образования хромопластов [41].

У трансгенных растений табака, экспрессирующих ген фактора транскрипции *AmMYB308*, резко увеличены гиперчувствительный ответ, образование перекисей липидов и ЗГК клеток палисадной ткани листа и уменьшено образование фенольных соединений, которые скорее всего играют роль природных антиоксидантов. Этот фенотип с ранним старением листьев и выраженной ЗГК возвращается к исходному дикому типу при добавлении к культуре клеток предшественников фенольных соединений [177]. Это явно указывает на то, что у растений природные фенольные соединения играют заметную защитную роль при кислородном стрессе и уменьшают обусловленный им риск преждевременной гибели клеток. Аналогич-

ную роль в растении выполняют и другие антиоксиданты, в том числе, флавоны, каротиноиды, аскорбиновая кислота, α -токоферол и прочие. Любопытно, что синтетические антиоксиданты в этиолированных проростках пшеницы индуцируют синтез большого количества природных антиоксидантов — пигментов, по-видимому, каротиноидной природы [24].

При росте клеток водоросли *Peridinium gatunense* (динофлагелляты) в условиях недостаточности растворенного в воде CO_2 у них стимулируется образование активных форм кислорода, в том числе перекиси водорода, и запускается ЗГК [190]. Эта индуцированная АФК гибель клеток ингибируется при насыщении среды углекислотой, подавляется каталазой и ингибитором цистеиновых протеаз E-64. По характеру индуцированных АФК цитологических изменений и распаду ДНК в клетках ЗГК у динофлагеллят напоминает апоптоз у растений и животных [190].

У кукурузы выявлен новый ген *les22*, который кодирует один из ферментов порфиринового метаболизма [88]. В результате мутации в этом гене возникает фотореактивируемый интермедиат, который генерирует АФК при интенсивном освещении; кроме того, этот фермент вовлечен в образование гема, необходимого для функционирования каталазы и аскорбатпероксидазы. Поэтому, выключение этого гена приводит к резкому накоплению АФК, которые запускают независимый от патогена апоптоз. Ген *lls1* у кукурузы участвует в ингибировании апоптоза [74], в норме он кодирует белок, разрушающий фенольные соединения. В отсутствие этого фермента в растительных клетках также происходит независимый от патогена апоптоз.

Замечено, что при окислительном стрессе в клетках растений заметно изменяется активность поли(АДФ-рибоза)-полимеразы, которая важна для реализации процесса апоптоза. В присутствии ингибиторов этого фермента подавляется индуцируемая H_2O_2 гибель клеток сои [28].

Недавно клонирован и охарактеризован ген (*oxy5*) *Arabidopsis thaliana*, который индуцируется у растений арабидопсиса при кислородном стрессе [93]. При экспрессии этого гена в бактериальных клетках они становятся устойчивыми к кислородному стрессу. При кислородном стрессе гибель растительных клеток сходна с индуцированным TNF-фактором (фактор некроза опухолей) апоптозом у животных. После переноса растительного гена *oxy5* в TNF-чувствительные клетки HeLa D98 они стали высокоустойчивыми к TNF, эта устойчивость сопровождалась понижением уровня АФК в трансформированных клетках, увеличением экспрессии этого гена и активности Mn-зависимой супероксиддисмутазы [93]. Таким образом, путем

активации антиокислительных ферментов растительный белок может контролировать индуцируемый TNF апоптоз в клетках животных.

У растений арабидопсиса найден ген *АТАО1* [129], кодирующий медь-зависимую аминоксидазу (гомологична на 48 % с аналогичными аминоксидазами гороха и чечевицы); этот фермент преимущественно окисляет диамины путресцины с образованием соответствующего альдегида, аммиака и перекиси водорода, которая, как известно, может сама интенсифицировать апоптоз. Регуляция содержания полиаминов в растении может оказаться очень важным элементом контроля за апоптозом, поскольку, как это известно для животных [170], полиамины могут запускать зависимый от митохондрий апоптоз. Так, например, полиамины стимулируют экспрессию у растений пшеницы и трансгенных растений табака гена джермина, кодирующего оксалатоксидазу, которая продуцирует H_2O_2 [37].

Известно, что в клетках животных заметную роль в инактивации АФК и предупреждении апоптоза играют глутатион и тиоредоксины [63]. Эти соединения, по-видимому, могут играть аналогичную роль и в растительных клетках; в хлоропластах и митохондриях растений найдены семейства тиоредоксинов, которые эффективно инактивируют возникающие АФК [119].

Подобно животным [3] иммунитет и апоптоз у растений могут контролироваться NO [84], которая образуется в растительных пероксисомах [34]. В основном, образование NO связывают с накоплением ионов NO_2^- , у растений NO может возникать из NO_2^- неэнзиматически на свету при участии каротиноидов или энзиматическим путем, катализируемым NADPH нитратредуктазой [59]. Если в клетках сои или табака подавлено образование NO, они не обладают гиперчувствительным ответом и устойчивость к патогенам у них заметно понижена. Синергично с АФК окись азота усиливает апоптоз и индуцирует транскрипцию защитных патоген-зависимых генов в растении [27, 49, 59, 60, 144]. В животных клетках ингибирующее апоптоз действие NO связано с ингибированием расщепления *Bcl-2* каспазой 3 [101]; может быть аналогичный механизм контроля NO апоптоза может существовать и у растений.

Нужно иметь в виду, что как природа АФК, так и их источники и пути возникновения в растительной клетке могут быть весьма различны. Образующиеся в митохондриях АФК в большей степени, по-видимому, могут быть нейтрализованы как эндогенными, так и синтетическими гидрофобными антиоксидантами (ВНТ и др.). С другой стороны, в инактивации накапливающихся в матриксе митохондрий супероксидов решающая роль, по-видимому, принадлежит супероксиддисмутазам. Различные АФК могут участвовать в

различных путях индукции апоптоза как зависимого, так и независимого от активации каспаз.

VI. МИТОХОНДРИИ И АПОПТОЗ

Мы уже отмечали, что окислительный стресс может вызывать апоптоз у растений, и это связано прежде всего с образованием активных форм кислорода, образующихся в митохондриях и пластидах. На фоне окислительного стресса может нарушаться структура митохондриальных мембран и митохондриальные белки выходят в цитоплазму с активацией соответствующих каспаз [76]. В частности, выход цитохрома *c* инициирует апоптоз в животных клетках [20, 167, 168]. Цитохром *c* образует комплекс с белком *Apaf-1* и активирует каспазу-9 с последующей активацией каспаз 3 и 7 [198]. Белок *Bcl-2*, локализованный на внешней мембране митохондрий, препятствует выходу цитохрома *c* из митохондрий и блокирует зависимый от митохондрий апоптоз [26, 40, 140]. Гомологичный *Bcl-2* белок обнаружен и у растений, в основном он ассоциирован с митохондриями, пластидами и ядром [54]. К сожалению, пути и механизмы выхода цитохрома *c* из митохондрий все еще мало изучены. Известно, что в животных клетках под влиянием разных индуцирующих апоптоз стимулов этот процесс происходит очень быстро, сопровождается последующим падением мембранного потенциала митохондрий и, по-видимому, обусловлен нарушением проницаемости внешней, но не внутренней мембраны митохондрий [73]; время между выходом цитохрома *c* и падением мембранного потенциала зависит от активации каспаз [73]. Агрегация митохондрий и нарушение проницаемости их мембран могут происходить при воздействии вирусных белков [176]. Не исключено, что аналогичные механизмы индукции апоптоза вирусами существуют и у растений.

Замечено, что при тепловом шоке (после относительно кратковременной инкубации семядолей огурца при 55°) цитохром *c* выходит из митохондрий и запускает типичный апоптоз с выраженной конденсацией цитоплазмы клеток и межнуклеосомной фрагментацией ДНК [33]. Выход цитохрома *c* из митохондрий в цитозоль выявлен у протопластов клеток табака [174] при индукции апоптоза менадионом [175]. При этом было показано, что специфические ингибиторы каспаз AC-DEVD-CHO (*Ac-Asp-Glu-Val-Asp-aldehyde*) и AC-YVAD-CHO (*N-acetyl-Try-Val-Ala-aspartinal*) тормозят деградацию каспазой-3 ее специфического субстрата поли(АДФ-рибоза)-полимеразы и не влияют на выход цитохрома *c*. Любопытно, что менадион индуцирует апоптоз и в изолированных ядрах печени мыши, если они помещены

в цитозоль клеток табака. Это указывает на комплементарность и известный консерватизм факторов и механизмов индукции апоптоза у разных эукариот, в том числе у животных и растений. Четко доказано, что в индукции апоптоза митохондриям принадлежит исключительная роль, поскольку в цитозоле клеток табака без растительных митохондрий индукции менадином апоптоза в мышечных ядрах не происходит [174]. После внесения в эту гетерологичную бесклеточную систему цитохрома *c* или митохондрий индуцируемые менадином апоптоз и деградация поли(АДФ-рибоза)-полимеразы выявляются заново [174]. Значит, менадион запускает апоптоз в протопластах табака, вызывая выход цитохрома *c* из митохондрий. Апоптоз в изолированных ядрах печени мыши, помещенных в цитозоль клеток моркови, эффективно индуцируется цитохромом *c* [209]. При этом выявляются такие типичные черты апоптоза, как конденсация хроматина, образование апоптозных тел, межнуклеосомная фрагментация ДНК и разрыв цепей ДНК с высвобождением 3'-ОН групп. Фрагментация ДНК подавляется ингибиторами каспаз AC-DEVD-CHO и AC-YVAD-CHO [209].

Выход цитохрома *c* из митохондрий в цитозоль наблюдается при инкубации корней растений арабидопсиса или суспензионной культуры клеток кукурузы в присутствии D-маннозы [171]. D-манноза приводит к резкому увеличению ДНК-азной активности в цитозоле клеток кукурузы, это сопровождается появлением специфической (35-кДа) эндонуклеазы и выраженной межнуклеосомной фрагментацией ДНК. Запускающее апоптоз действие маннозы в растительных клетках весьма специфично: L-манноза, D-глюкоза и D-галактоза таким действием не обладают [171]. Тем не менее, нужно иметь в виду, что у растений существуют и такие формы выраженного апоптоза, при которых заметного выхода цитохрома *c* не выявляется, как, например, при индуцированном опылении апоптозе в лепестках петунии [203].

Разумеется, с митохондриями связан конечно и апоптоз, индуцируемый АФК, генерируемыми митохондриями. У растений с супрессированной альтернативной оксидазой (АО) резко поднимается уровень АФК в митохондриях после обработки антимицином (ингибитор комплекса III окислительной цепи электронного транспорта) и усиливается вызываемый АФК апоптоз [116]. Обычно экспрессия АО в листьях растений (арабидопсис) быстро увеличивается под воздействием авирулентных бактерий и значительно медленнее это происходит при заражении патогенными микробами [164]. Причем, для такой индукции АО обязателен этилен. Таким образом, локальная индукция АО, сопряженная с образованием этилена, может служить

эффективным элементом защиты от АФК при гиперчувствительном ответе растения.

К сожалению, роль пластид в апоптозе еще очень мало изучена, тем не менее, вклад этих субклеточных органелл в индукцию и регуляцию апоптоза должен быть весьма весомым: они служат не только мощным источником АФК (хлоропласты), но и антиоксидантов (хромопласты), а также, по-видимому, и самых различных белковых факторов, контролирующих апоптоз.

VII. ГОРМОНАЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ АПОПТОЗА

Нет сомнений в том, что гормональные сигналы являются ведущими элементами в регуляции клеточной дифференцировки и всей программы развития, в том числе и запрограммированной гибели клеток у растений. В клетках цинии раневое поражение и определенное соотношение цитокинина и ауксина запускают апоптоз с формированием сосудистых элементов из мезофильных клеток [65]. Интересно, что при добавлении к клеткам трипсина активируется Ca^{2+} -зависимая нуклеаза и усиливаются деградация вакуоли и фрагментация яДНК [80, 81]; при этом секреция ингибируемой соевым трипсиновым ингибитором протеазы с молекулярной массой 40 кДа коррелирует с дифференцировкой сосудистых элементов. Межнуклеосомная фрагментация ДНК в клетках эндосперма злаков происходит после максимума образования в них этилена [207]. «Гормон старения» этилен резко угнетает активность противостоящему апоптозу *dad* гена в стареющих лепестках гороха [141]. Ингибирование образования этилена замедляет апоптозную фрагментацию ДНК у злаков, но не может предотвратить ЗГК в эндосперме [207]. Под действием этилена, образующегося из этрела (2-хлорэтилсульфоновая кислота), индуцируется апоптоз в протопластах клеток моркови [210]. Установлено, что индуцированная микотоксинами (AAL-токсин, фумонизин В-1) гибель клеток чувствительных растений томатов сопряжена с индукцией образования в них 1-аминоциклопропан-1-карбоксилловой кислоты (АЦК) и этилена; под действием этих токсинов в клетках растений усиливается образование мРНК АЦК-синтазы и АЦК-оксидазы [130]. Продуцируемый *Cochliobolus victoriae* фитотоксин викторин вызывает типичный апоптоз в клетках листьев овса, этот процесс сопровождается интенсивным образованием этилена [134]. Считается, что именно этилену принадлежит решающая роль в индуцируемом токсином апоптозе в листьях овса, поскольку ингибиторы синтеза этилена (тиосульфат серебра, аминоксисукусная кислота) резко подавляют этот апоптоз [134]. Как бы ни было, этилен,

регулируя экспрессию соответствующих генов [162], контролирует процессы старения и апоптоза у растений. В корнях кукурузы в условиях гипоксии резко усиливается образование этилена, который запускает апоптоз клеток, приводящий к формированию запасочной кислород аэренхимы [55]. Под воздействием этилена увеличивается активность целлюлаз и ксиланглюканэндотрансгликозилаз, которые участвуют в деградации клеточных стенок апоптозных клеток; возрастает также активность протеаз, липаз, ДНК-аз и других гидролитических ферментов [55]. Этилен запускает транскрипцию связанных со старением генов и модулирует (ускоряет) апоптоз. Мутанты растений арабидопсиса с нарушенной восприимчивостью к этилену обладают большей продолжительностью жизни по сравнению с контрольными растениями дикого типа [75].

Абсцизовая кислота (АБК) ингибирует фрагментацию ДНК в клетках алейронового слоя ячменя, а гибберелловая кислота тормозит это действие абсцизовой кислоты; ауксин и цитокинин не влияют на этот процесс [194]. В присутствии АБК протопласты клеток алейронового слоя ячменя выживают, по крайней мере, в течение 20 дней, а в присутствии гиббереллина у большинства протопластов быстро наблюдается выраженная ЗГК, сопровождающаяся деградацией ДНК [38]. Гиббереллин запускает ЗГК в алейроновом слое ячменя [38]. В отличие от апоптоза у животных, в клетках алейронового слоя ячменя образования апоптозных тел не обнаружено, а ДНК гидролизуются до высокомолекулярных фрагментов без выраженной межнуклеосомной фрагментации [38]. Таким образом, ЗГК в алейроновом слое ячменя как часть программы развития проростка контролируется гормонально. АБК тормозит апоптоз в клетках алейронового слоя пшеницы [106] и в развивающихся пыльниках ячменя [193]. Для запуска апоптоза в эндосперме зерновок кукурузы существенное значение имеет соотношение АБК и этилена [207]. Мы наблюдали, что экзогенная АБК в концентрации 10^{-5} М резко стимулирует апоптозную фрагментацию ДНК в колеоптилях этиолированных проростков пшеницы (см. рис. 2), в то время как все другие исследованные регуляторы роста растений (2,4-D, цитокинин 6-бензиламинопурин, гиббереллин, фузикоцин) в тех же концентрациях и при тех же условиях выращивания растений существенно не влияли на этот процесс. Известно, что цитокинины являются некими омолаживающими фитогормонами, которые стимулирует позеленение стареющих листьев [18]. Однако 6-бензиламинопурин не влияет или, по крайней мере, не тормозит апоптозную фрагментацию ДНК в колеоптилях пшеницы (см. рис. 2). По-видимому, основной мишенью омолаживающего действия цитокининов являются пластиды (хлоропласты).

Старение листьев у растений арабидопсиса сопровождается индукцией многих довольно специфичных (маркерных) генов старения [133], в том числе генов, кодирующих протеазы, нитрилазу, глиоксилазу II [149]. Возрастное увеличение экспрессии гена нитрилазы в стареющих листьях арабидопсиса сопровождается параллельным увеличением содержания в листьях свободной индолил-3-уксусной кислоты [149]. При старении лепестков лилии выявлена экспрессия нескольких специфических генов, которые не экспрессируются в молодых тканях (листья) и корнях растения, среди них имеются гены, предположительно кодирующие гидролазу жирных кислот, аспарагиновую протеиназу, нуклеазу S1-типа и другие [143]. Под влиянием АБК, ускоряющей старение лепестков, количество транскриптов (мРНК) некоторых из этих генов увеличивается в 3—40 раз [143]. Старение и апоптоз клеток арабидопсиса в суспензионной культуре сопряжены с транскрипцией поздних генов *srg 1* (кодирует FeII/аскорбатоксидазу), *srg 2* (кодирует β -глюкозидазу) и *srg 3*, которые экспрессируются только в стареющих органах этого растения [43].

Довольно мощным рост-регулирующим действием на растения обладает известный фитотоксин фузикоцин. Хотя молекулярные механизмы действия этого регулятора роста растений все еще не совсем ясны, однако, бесспорно, главной первичной мишенью его действия являются мембраны растительных клеток и мембраносвязанные белки [21, 64, 182]. В частности, он активирует мембранную H(+)-АТФ-азу и специфично индуцирует связывание с ней известных регуляторных 14–3–3 белков [64]. Эти белки могут контролировать апоптоз в животных клетках и даже предполагается, что их основная функция состоит именно в блокировании апоптоза [201]. Не исключено, что они могут играть аналогичную роль и у растений. Поэтому формирование известных специфических комплексов фузикоцин–белок 14–3–3 [21, 64, 182] может сказываться на проявлении апоптоз-регулирующих функций этих сигнальных регуляторных белков в растительных клетках. Однако действие собственно фузикоцина на апоптоз у растений все еще практически не изучено. В наших предварительных экспериментах с этиолированными проростками пшеницы не удалось обнаружить какого-либо заметного влияния экзогенного фузикоцина на апоптозную фрагментацию ДНК в клетках колеоптиля (см. рис. 2). Известно, что большинство фитогормонов принадлежит к терпеноидам, которые очень широко распространены у растений. При обработке растений ромашки (*Matricaria chamomilla*) терпеноидом гераниолом (5 мМ) в клетках примордиев индуцируется апоптоз [90].

К сожалению, механизмы регуляции апоптоза фитогормонами у растений практически не изучены. Можно думать, что у растений фитогормоны могут регулировать транскрипцию про- и антиапоптотических белков, подобно, например, тому, как гормоны (эстроген и другие) у животных контролируют транскрипцию *Bcl-2* [39].

VIII. МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК И АПОПТОЗ

Онтогенез как реализация генетической программы развития организма подразумевает упорядоченные репрессию и дерепрессию соответствующих генов. Уже давно высказано предположение о том, что ЗГК сопряжена с дерепрессией определенных терминальных генов старения и смерти [1, 4]. Известно, что одним из механизмов инактивации генов у растений является метилирование ДНК [5, 6, 10, 12, 186], и этот процесс контролируется гормонами [10, 186, 191]. Установлено, что метилирование ДНК у животных [17, 187—189] и растений [10, 22, 186] тканеспецифично и значительно уменьшается с возрастом, поэтому резонно думать, что возрастное деметилирование ДНК может касаться и генов, кодирующих апоптогенные белки (факторы). Во всяком случае, имеются данные о том, что с возрастом происходят заметное деметилирование связанных со старением генов и активация их транскрипции. Так, например, при созревании плодов томатов деметилируются гены полигалактуроназы и целлюлазы [82].

ДНК-деметирующий агент 5-азациитидин индуцирует апоптоз в нейронах [132] и сильно активирует экспрессию Le(y) антигена, связанную с индукцией апоптоза в A549 клетках рака легкого человека [155]. С другой стороны, 5-азациитидин подавляет индуцируемый 1,25-дигидроксивитамином D3 апоптоз в клетках глиомы крысы и этот эффект сохраняется после нескольких клеточных делений, что указывает на существование эпигенетического контроля метилированием ДНК за ЗГК [44]. У растений 5-азациитидин также индуцирует экспрессию самых различных генов, в том числе и генов запасных белков [6].

При инкубации проростков пшеницы в присутствии 5-азациитидина апоптотическая фрагментация ДНК в coleoptile резко возрастает (см. рис. 2). Это может быть связано как с дерепрессией и индукцией апоптогенных факторов, эндонуклеаз, так и с увеличением степени доступности нуклеазам деметилированной ДНК в хроматине. Сформированный в присутствии 5-азациитидина хроматин менее компактен из-за того, что гистон H1, участвующий в компатизации хроматина в межнуклеосомных спейсерных областях, не связывается с деметилированной ДНК.

Олигонуклеотиды с типичным CpG сайтом эукариотического метилирования блокируют зависимый и независимый от каспаз апоптоз в животных клетках, а метилированные аналоги этих же олигонуклеотидов, содержащие m⁵CpG последовательности не обладают таким действием [148]. Хотя механизмы этой блокады неясны, можно думать, что использованные неметилированные олигонуклеотиды конкурируют с содержащими аналогичные неметилированные сайты участками генома за связывание с апоптозными факторами, а метилирование этих последовательностей в геноме в известной мере может контролировать апоптоз.

В этой связи исключительное значение приобретают поиски, характеристика и исследование про- и антиапоптозных генов и их продуктов у растений. В первую очередь это касается гомологичных животным *p53* [165], TNF, *Bar*, *Bis*, *Ras*, *Rho*, семейства *Bcl* и других. Кстати, *Rho1Ps* сДНК гороха уже клонирована и показано, что она соответствует белку, который примерно на 60 % гомологичен другим белкам из *Rho* семейства и на 30 % гомологичен небольшим ГТФ-связывающим белкам семейства *Ras* [204]. Уже имеются сведения о том, что как механизмы апоптоза, так и отдельные конкретные исполнительные элементы ЗГК эволюционно консервативны; так, например, ингибиторы апоптоза насекомых и бакуловирусов являются эффективными ингибиторами каспазы-9 млекопитающих [89].

IX. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Апоптоз является интегральной частью процесса развития растений и представляет собой генетически детерминированную программу смерти клеток. Реализация этой программы в онтогенезе сопровождается специфическими изменениями морфологии клетки, структуры ядра и цитоплазмы, активацией каспаз, нуклеаз, синтеза мтДНК, доменной и межнуклеосомной фрагментацией ядерной ДНК. Этот процесс широко распространен у разных растительных видов и обнаруживается в самых различных тканях растений, он как клеточная дифференцировка (ее терминальная стадия) может контролироваться фитогормонами. Старение органов растений, в основном, идет по пути апоптоза и сопровождается дерепрессией многих специфических (маркерных) генов старения. В целом, по своим проявлениям и механизмам апоптоз у растений довольно сходен с апоптозом у животных. В контроле за апоптозом у растений, как и у животных, принимают участие NO, Ca²⁺ и, по-видимому, керамины. В одной и той же растительной клетке могут существовать разные пути запрограммированной гибели. ЗГК в растениях может запускаться

многими, в том числе и неблагоприятными факторами (окислительный стресс и другие); существует зависимый от салициловой кислоты апоптоз. ЗГК может быть частью так называемого гиперчувствительного ответа растения при атаке патогенами различной природы (вирусные, бактериальные и грибные инфекции), это обычно сопровождается резким увеличением образования АФК. Ключевая роль в инициации определенных видов апоптоза принадлежит митохондриям: также как и у животных, индуцированный выход из митохондрий цитохрома *c* и других белковых факторов запускает апоптоз в растительных клетках. Активные формы кислорода могут служить триггерными молекулами апоптоза, а антиоксиданты подавляют апоптоз у растений.

Работа поддержана грантами РФФИ № 99–04–48090 и 00–15–97920.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бердышев Г.Д. // Успехи соврем. биол. 1968. Т. 66. С. 258–269.
2. Бердышев Г.Д., Коротаев Г.К., Боярских Г.В., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1967. Т. 32, С. 988–993.
3. Брюне Б., Сандау К., фон Кнетен А. // Биохимия. 1998. Т. 63. С. 966–975.
4. Ванюшин Б.Ф., Бердышев Г.Д. Молекулярно-генетические механизмы старения. М.: «Медицина», 1977. 295 с.
5. Ванюшин Б.Ф., Кадырова Д.Х., Каримов Х.Х., Белозерский А.Н. // Биохимия. 1971. Т. 36. С. 1251–1258.
6. Ванюшин Б.Ф., Севостьянова С.С., Кирнос М.Д., Саидова Н.С. // Известия АН СССР, Серия биол. 1990. № 1. С. 75–83.
7. Воронцова М.А., Лиознер Л.Д. Физиологическая регенерация. М.: «Советская наука». 1955. 508 с.
8. Кирнос М.Д., Александрушкина Н.И., Бакеева Л.Е., Казимирчук С.Б., Шорнинг Б.Ю., Алексеева В.А., Ягузинский Л.С., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1999. Т. 64. С. 368–380.
9. Кирнос М.Д., Александрушкина Н.И., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1997. Т. 62. С. 1008–1014.
10. Кирнос М.Д., Александрушкина Н.И., Власова Т.И., Ванюшин Б.Ф. // Молекулярная биология. 1995. Т. 29. С. 1242–1257.
11. Кирнос М.Д., Александрушкина Н.И., Горемыкин В.В., Кудряшова И.Б., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1992. Т. 57. С. 1566–1573.
12. Кирнос М.Д., Александрушкина Н.И., Кутуева Л.И., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1988. Т. 53. С. 355–367.
13. Кирнос М.Д., Александрушкина Н.И., Шорнинг Б.Ю., Бубеницкова С.Н., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1997. Т. 62. С. 1587–1597.
14. Кирнос М.Д., Александрушкина Н.И., Шорнинг Б.Ю., Кудряшова И.Б., Ванюшин Б.Ф. // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 48–57.
15. Кирнос М.Д., Бакеева Л.Е., Волкова С.А., Ганичева Н.И., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1983. Т. 48. С. 1505–1512.
16. Кирнос М.Д., Волкова С.А., Ганичева Н.И., Кудряшова И.Б., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1983. Т. 48. С. 1587–1595.
17. Кудряшова И.Б., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1976. Т. 41. С. 1106–1115.

18. Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функция. М.: «Наука», 1973. 264 с.
19. Лагучев С.С. // Успехи соврем. биол. 1963. Т. 56. С. 274—283.
20. Скулачев В.П. // Биохимия. 1999. Т. 64. С. 1418—1426.
21. Трофимова М.С., Дробкин А.В., Клычников О.И., Зориняц С.А., Андолафи А.А., Эвиденте А., Бабаков А.В. // Физиология растений. 1997. Т. 44. С. 652—657.
22. Хвойка Л., Сулимова Г.Е., Булгаков Р., Башките Е.А., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 1978. Т. 43. С. 996—1000.
23. Чайлахян М.Х. Регуляция цветения высших растений. М.: «Наука». 1988. 558 с.
24. Шорнинг Б.Ю., Полещук С.В., Горбатенко И.Ю., Ванюшин Б.Ф. // Известия РАН, Серия биол. 1999. № 1. С. 30—38.
25. Шорнинг Б.Ю., Смирнова Е.Г., Ягузинский Л.С., Ванюшин Б.Ф. // Биохимия. 2000. Т. 65. С. 1612—1617.
26. Adams J.M., Cory S. // Science. 1998. Vol. 281. P. 1322—1326.
27. Alvarez M.E., Pennell R.I., Meijer P.-J., Ishikawa A., Dixon R.A., Lamb C. // Cell. 1998. Vol. 92. P. 773—784.
28. Amor Y., Babiychuk E., Inze D., Levine A. // FEBS Lett. 1998. Vol. 440. P. 1—7.
29. Aoyagi S., Sugiyama M., Fukuda H. // FEBS Lett. 1998. Vol. 429. P. 134—138.
30. Aravind L., Dixit V.M., Koonin E.V. // Trends Biochem. Sci. 1999. Vol. 24. P. 47—53.
31. Ashkenazi A., Dixit V.M. // Science. 1998. Vol. 281. P. 1305—1308.
32. Bakeeva L.E., Kirnos M.D., Aleksandrushkina N.I., Kazimirchuk S.B., Shorning B.Yu., Zamyatina V.A., Yaguzhinsky L.S., Vanyushin B.F. // FEBS Letters. 1999. Vol. 457. P. 122—125.
33. Balk J., Leaver C. J., McCabe P.F. // FEBS Lett. 1999. Vol. 463. P. 151—154.
34. Barroso J.B., Corpas F.J., Carreras A., Sandalio L.M., Valderrama R., Palma J.M., Lupianez J.A., del Rio L.A. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 36729—36733.
35. Beers E.P. // Cell Death and Differentiation. 1997. Vol. 4. P. 649—661.
36. Beers E.P., Freeman T.B. // Plant Physiol. 1997. Vol. 113. P. 873—880.
37. Berna A., Bernier F. // Plant Mol. Biol. 1999. Vol. 39. P. 539—549.
38. Bethke P.C., Lonsdale J.E., Fath A., Jones R.L. // Plant Cell. 1999. Vol. 11. P. 1033—1045.
39. Binoe M.S., Grimaldi C.M., Diamond B. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97. P. 2703—2708.
40. Bossy-Wetzel E., Newmeyer D.D., Green D.R. // EMBO J. 1998. Vol. 17. P. 37—49.
41. Bouvier F., Backhaus R.A., Camara B. // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 273. P. 30651—30659.
42. Buckner B., Janick-Buckner D., Gray J., Johal G.S. // Trends Plant Sci. 1998. Vol. 3. P. 218—223.
43. Callard D., Axelos M., Mazzolini L. // Plant Physiol. 1996. Vol. 112. P. 705—715.
44. Canova C., Chevalier G., Remy S., Brachet P., Wion D. // Mech. Ageing. Dev. 1998. Vol. 101. P. 153—166.
45. Chamnongpol S., Willekens H., Moeder W., Langebartels C., Sandermann H., Van Montagu M., Inze D., Van Camp W. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95. P. 5818—5823.
46. Cohen G.M. // Biochem. J. 1997. Vol. 326. P. 1—16.
47. del Pozo O., Lam E. // Curr. Biol. 1998. Vol. 8. P. 1129—1132.
48. Dangl J.L., Dietrich R.A., Richberg M.H. // Plant Cell. 1996. Vol. 8. P. 1793—1807.

49. *Delledone M., Xia Y., Dixon R.A., Lamb C.J.* // Nature. 1998. Vol. 394. P. 585—588.
50. *DeLong A., Calderon-Urrea A., Delaporta S.L.* // Cell. 1993. Vol. 74. P. 757—768.
51. *Demura T., Fukuda H.* // Plant Cell. 1994. Vol. 6. P. 967—981.
52. *Desikan R., Reynolds A., Hancock J.T., Neill S.J.* // Biochem. J. 1998. Vol. 330. P. 115—120.
53. *Dietrich R.A., Richberg M.H., Schmidt R., Dean C., Dangl J.L.* // Cell. 1997. Vol. 88. P. 685—694.
54. *Dion M., Chamberland H., St-Michel C., Plante M., Darveau A., Lafontaine J.G., Brisson L.F.* // Biochem. Cell. Biol. 1997. Vol. 75. P. 457—461.
55. *Drew M.C., He C.-J., Morgan P.W.* // Trends Plant Sci. 2000. Vol. 5. P. 122—127.
56. *D'Silva I., Poirier G.G., Heath M.C.* // Exptl. Cell. Res. 1998. Vol. 245. P. 389—399.
57. *Du H., Klessig D.F.* // Mol. Plant—Microbe Interact. 1997. Vol. 7. P. 922—925.
58. *Dunigan D.D., Madlener J.C.* // Virology. 1995. Vol. 207. P. 460—466.
59. *Durner J., Klessig D.F.* // Current Opin. Plant Biol. 1999. Vol. 2. P. 369—374.
60. *Durner J., Wendehenne D., Klessig D.F.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95. P. 10328—10333.
61. *Earnshaw W.C., Martins L.M., Kaufmann S.H.* // Annu. Rev. Biochem. 1999. Vol. 68. P. 383—424.
62. *Fadel B., Orrenius S., Zhivotovsky B.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1999. Vol. 266. P. 699—717.
63. *Fiers W., Beyaert R., Declercq W., Vandenaabeele P.* // Oncogene. 1999. Vol. 18. P. 7719—7730.
64. *Fuglsang A.T., Visconti S., Drumm K., Jahn T., Stensballe A., Mattei B., Jensen O.N., Aducci P., Palmgren M.G.* // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 36774—36780.
65. *Fukuda H.* // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1996. Vol. 47. P. 299—325.
66. *Fukuda H.* // Plant Cell. 1997. Vol. 9. P. 1147—1156.
67. *Gallois P., Makishima T., Hecht V., Despres B., Laudie M., Nishimoto T., Cooke R.* // Plant J. 1997. Vol. 11. P. 1325—1331.
68. *Gao M., Showalter A.M.* // Plant J. 1999. Vol. 19. P. 321—331.
69. *Gilchrist D.G.* // Annu. Rev. Phytopathol. 1998. Vol. 36. P. 393—414.
70. *Gilchrist D.G.* // Cell Death and Differentiation. 1997. Vol. 4. P. 689—698.
71. *Glocksmann A.* // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 1951. Vol. 26. P. 59—86.
72. *Godiard L., Grant M. R., Dietrich R.A., Kiedrowski S., Dangl J.L.* // Curr. Opin. Genet. Dev. 1994. Vol. 4. P. 662—671.
73. *Goldstein J.C., Waterhouse N.J., Juin P., Evan G.I., Green D.R.* // Nature Cell Biol. 2000. Vol. 2. P. 156—162.
74. *Gray J., Close P.S., Briggs S.P., Johal G.S.* // Cell. 1997. Vol. 89. P. 25—32.
75. *Grbic V., Bleecker A.B.* // Plant J. 1995. Vol. 8. P. 595—602.
76. *Green D. R., Reed J.C.* // Science. 1998. Vol. 281. P. 1309—1312.
77. *Greenberg J.T.* // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1997. Vol. 48. P. 525—545.
78. *Greenberg J.T.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. Vol. 93. P. 12094—12097.
79. *Greenberg J.T., Guo A., Klessig D.F., Ausubel F.M.* // Cell. 1994. Vol. 77. P. 551—563.
80. *Groover A., DeWitt N., Heidele A., Jones A.* // Protoplasma. 1997. Vol. 196. P. 197—211.
81. *Groover A., Jones A.M.* // Plant Physiol. 1999. Vol. 119. P. 375—384.

82. *Hudfield K.A., Dandekar A.M., Romani R.J.* // *Plant Sci.* 1993. Vol. 92. P. 13—18.
83. *Hansen G.* // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2000. Vol. 13. P. 649—657.
84. *Hausladen A., Stamler J.S.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. Vol. 95. P. 10345—10347.
85. *Heath M.C.* // *Eur. J. Plant Pathol.* 1998. Vol. 104. P. 117—124.
86. *Heo W.D., Lee S.H., Kim M.C., Kim J.C., Chung W.S., Chun H.J., Lee K.J., Park C.Y., Park H.C., Choi J.Y., Cho M.J.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 766—771.
87. *Hengartner M.O., Horvitz R.H.* // *Cell.* 1994. Vol. 76. P. 655—676.
88. *Hu G., Yalpani N., Briggs S.P., Johal G.S.* // *Plant Cell.* 1998. Vol. 10. P. 1095—1105.
89. *Huang Q., Deveraux Q. L., Maeda S., Salvessen G.S., Stennicke H.R., Hammock B.D., Reed J.C.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97. P. 1427—1432.
90. *Izumi S., Takashima O., Hirata T.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999. Vol. 259. P. 519—522.
91. *Jabs T.* // *Biochem. Pharmacol.* 1999. 57. P. 231—245.
92. *Jabs T., Dietrich R.A., Dangl J.L.* // *Science.* 1996. Vol. 273. P. 1853—1856.
93. *Janicke R.U., Porter A.G., Kush A.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. Vol. 1402. P. 70—78.
94. *Jiang Z.F., Zhu S., Sun Y.L., Zhai Z.H.* // *Cell Res.* 1999. Vol. 9. P. 79—90.
95. *Kampranis S.C., Damianova R., Atallah M., Toby G., Kondi G., Tsihchlis P.N., Makris A.M.* // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 29207—29216.
96. *Kawai M., Pan L., Reed J. C., Uchimiya H.* // *FEBS Lett.* 1999. Vol. 464. P. 143—147.
97. *Kawasaki T., Henmi K., Ono E., Hatakeyama S., Iwano M., Satoh H., Shimamoto K.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 10922—10926.
98. *Kazan K., Murray F.R., Goulter K.C., Llewellyn D.J., Manners J.M.* // *Mol Plant—Microbe Int.* 1998. Vol. 11. P. 555—562.
99. *Keller T., Damude H.G., Werner D., Doerner P., Dixon R.A., Lamb C.* // *Plant Cell.* 1998. Vol. 10. P. 255—266.
100. *Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Curie A.R.* // *Br. J. Cancer.* 1972. Vol. 26. P. 239—257.
101. *Kim Y.-M., Kim T.-H., Seol D.-W., Talanian R.V., Billiar T.R.* // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 31437—31441.
102. *Kirnos M.D., Alexandrushkina N.I., Zagorskaya G. Ya., Kireev I.I., Vanyushin B.F.* // *FEBS Lett.* 1992. Vol. 298. P. 109—112.
103. *Kosslak R.M., Chamberlin M.A., Palmer R.G., Bowen B.A.* // *Plant J.* 1997. Vol. 11. P. 729—745.
104. *Koukalova B., Kovarik A., Fajkus J., Siroky J.* // *FEBS Lett.* 1997. Vol. 414. P. 289—292.
105. *Kovtun Y., Chiu W.-L., Tena G., Sheen J.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97. P. 2940—2945.
106. *Kuo A., Cappelluti S., Cervantes-Cervantes M., Rodriguez M., Bush D.S.* // *Plant Cell.* 1996. Vol. 8. P. 259—269.
107. *Lacomme C., Santa Cruz S.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 7956—7961.
108. *Lam E., Pontier D., del Pozo O.* // *Current Opin. Plant Biol.* 1999. Vol. 2. P. 502—507.
109. *Lamb C., Dixon R.A.* // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1997. Vol. 48. P. 251—275.
110. *Lee H.-C., Yin P.-H., Lu C.-Y., Chi C.-W., Wei Y.-H.* // *Biochem. J.* 2000. Vol. 348. P. 425—432.
111. *Levine A., Pennell R.I., Alvarez M.E., Palmer R., Lamb C.* // *Curr. Biol.* 1996. Vol. 6. P. 427—437.

112. Lokshin R.A., Beaulaton J. // *Life Sci.* 1975. Vol. 15. P. 1549—1565.
113. Lorget F., Kamel S., Mentaverri R., Waitel A., Naassila M., Maamer M., Brazier M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. Vol. 268. P. 899—903.
114. LoSchiavo F., Baldan B., Compagnin D., Ganz R., Mariani P., Terzi M. // *Eur. J. Cell Biol.* 2000. Vol. 79. P. 294—298.
115. Machida Y., Nishihama R., Kitakura S. // *Crit. Rev. Plant Sci.* 1997. Vol. 16. P. 481—496.
116. Maxwell D.P., Wang Y., McIntosh L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 8271—8276.
117. Mayda E., Tornero P., Conejero V., Vera P. // *Plant J.* 1999. Vol. 20. P. 591—600.
118. McCabe P.F., Levine A., Meijer P.J., Tapon N.A., Pennel R.I. // *Plant J.* 1997. Vol. 12. P. 267—280.
119. Meyer Y., Verdoucq L., Vignols F. // *Trends Plant Sci.* 1999. Vol. 4. P. 388—394.
120. Mitsuhashi I., Malik K.A., Miura M., Ohashi Y. // *Curr. Biol.* 1999. Vol. 9. P. 775—778.
121. Mittler R., Del Pozo O., Meisel L., Lam E. // *Dev. Genet.* 1997. Vol. 21. P. 279—289.
122. Mittler R., Feng X., Cohen M. // *Plant Cell* 1998. Vol. 10. P. 461—473.
123. Mittler R., Herr E.H., Orvar B.L., van Camp W., Willekens H., Inze D., Ellis B.E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 14165—14170.
124. Mittler R., Lam E. // *Plant Cell.* 1995. Vol. 7. P. 1951—1962.
125. Mittler R., Lam E. // *Plant Mol. Biol.* 1997. Vol. 34. P. 209—221.
126. Mittler R., Lam E., Shulaev V., Cohen M. // *Plant Mol. Biol.* 1999. Vol. 39. P. 1025—1035.
127. Mittler R., Shulaev V., Seskar M., Lam E. // *Plant Cell.* 1996. Vol. 8. P. 1991—2001.
128. Mittler R., Simon L., Lam E. // *J. Cell Sci.* 1997. Vol. 110. P. 1333—1344.
129. Moller S.G., McPherson M.J. // *Plant J.* 1998. Vol. 13. P. 781—791.
130. Moore T., Martineau B., Bostock R.M., Lincoln J.E., Gilchrist D.G. // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 1999. Vol. 54. P. 73—85.
131. Morel J.B., Dangl J.L. // *Cell Death and Differentiation.* 1997. Vol. 4. P. 671—683.
132. Nakayama H., Kajikawa S., Shinozuka J., Su W.P., Doi K. // *Histol. Histopathol.* 1999. Vol. 14. P. 143—150.
133. Nam H.G. // *Current Opinion in Biotech.* 1997. Vol. 8. P. 200—207.
134. Navarre D.A., Wolpert T.J. // *Plant Cell.* 1999. Vol. 11. P. 237—249.
135. Nicotera P., Orrenius S. // *Cell Calcium.* 1998. Vol. 23. P. 173—180.
136. Nooden L.D., Guiamet J.J., John I. // *Physiologia Plantarum.* 1997. Vol. 101. P. 746—753.
137. O'Brien I.E., Baguley B.C., Murray B.G., Morris B.A.M., Ferguson I.B. // *Plant J.* 1998. Vol. 13. P. 803—814.
138. O'Brien I.E., Murray B.G., Baguley B.C., Morris B.A., Ferguson I.B. // *Exp. Cell Res.* 1998. Vol. 241. P. 46—54.
139. O'Brien I.E., Reutelingsperger C.P., Holdaway K.M. // *Cytometry.* 1997. Vol. 29. P. 28—33.
140. Okuno S., Shimizu S., Ito T., Nomura M., Hamada E., Tsujimoto Y., Matsuda H. // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 34272—34277.
141. Orzaez D., Granell A. // *FEBS Lett.* 1997. Vol. 404. P. 275—278.
142. Orzaez D., Granell A. // *Plant J.* 1997. Vol. 11. P. 137—144.
143. Panavas T., Pikula A., Reid P.D., Rubinstein B., Walker E.L. // *Plant Mol. Biol.* 1999. Vol. 40. P. 237—248.
144. Pennell R.I., Lamb C.J. // *Plant Cell.* 1997. Vol. 9. P. 1157—1168.

145. Pontier D., Balague C., Roby D. // *Compt. Rend. Acad. Sci. Serie III*. 1998. Vol. 321. P. 721—734.
146. Pontier D., Gan S., Amasino R. M., Roby D., Lam E. // *Plant Mol. Biol.* 1999. Vol. 39. P. 1243—1255.
147. Pontier D., Tronchet M., Rogowsky P., Lam E., Roby D. // *Mol. Plant Microbe Interact.* 1998. Vol. 11. P. 544—554.
148. Qi L., Sit K.H. // *Mol. Cell Biol. Research Commun.* 2000. Vol. 3. P. 33—41.
149. Quirino B.F., Normanly J., Amasino R.M. // *Plant. Mol. Biol.* 1999. Vol. 40. P. 267—278.
150. Rate D.N., Cuenca J.V., Bowman G.R., Guttman D.S., Greenberg J.T. // *Plant Cell*. 1999. Vol. 11. P. 191—206.
151. Reichheld J.P., Vernoux T., Lardon F., Van Montagu M., Inze D. // *Plant J.* 1999. Vol. 17. P. 647—656.
152. Richberg M.H., Aviv D.H., Dangl J.L. // *Curr. Opin. Plant Biol.* 1998. Vol. 1. P. 480—485.
153. Robertson O.H., Wexler B.C. // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1962. Vol. 2. P. 458—472.
154. Sabatini M., Rolland G., Leonce S., Thomas M., Lesur C., Perez V., de Nanteuil G., Bonnet J. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. Vol. 267. P. 438—444.
155. Saitoh F., Hiraishi K., Adachi M., Hozumi M. // *Anticancer Res.* 1995. Vol. 15. P. 2137—2143.
156. Sanchez P., de Torres Zabala M., Grant M. // *Plant J.* 2000. Vol. 21. P. 393—399.
157. Saunders J.W. // *Science*. 1966. Vol. 154. P. 604—612.
158. Scandalios J.G. // *Plant Physiol.* 1993. Vol. 101. P. 7—12.
159. Schindler T., Bergfeld R., Schopfer P. // *Plant J.* 1995. Vol. 7. P. 25—36.
160. Schmid M., Simpson D., Gietl C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. Vol. 96. P. 14159—14164.
161. Schwartz L.M., Smith S.W., Jones M.E.E., Osbourne B.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. Vol. 90. P. 980—984.
162. Shah J., Kachroo P., Klessig D.F. // *Plant Cell*. 1999. Vol. 11. P. 191—206.
163. Shirasu K., Nakajima H., Rajasekhar V.K., Dixon R.A., Lamb C.J. // *Plant Cell*. 1997. Vol. 9. P. 261—270.
164. Simons B.H., Millenaar F.F., Mulder L., Van Loon L. C., Lambers H. // *Plant Physiol.* 1999. Vol. 120. P. 529—538.
165. Sionov R.V., Haupt Y. // *Oncogene*. 1999. Vol. 18. P. 6145—6157.
166. Skalamera D., Heath M.C. // *Plant J.* 1998. Vol. 16. P. 191—200.
167. Skulachev V.P. // *Mol. Aspects Med.* 1999. Vol. 20. P. 139—184.
168. Skulachev V.P. // *FEBS Lett.* 1998. Vol. 423. P. 275—280.
169. Solomon M., Belenghi B., Delledonne M., Menachem E., Levine A. // *Plant Cell*. 1999. Vol. 11. P. 431—444.
170. Stefanelli C., Stanic I., Zini M., Bonavita F., Flamigni F., Zambonin L., Landi L., Pignatti C., Guarnieri C., Calderera C. M. // *Biochem. J.* 2000. Vol. 347. P. 875—880.
171. Stein J.C., Hansen G. // *Plant Physiol.* 1999. Vol. 121. P. 71—80.
172. Sugimoto A., Hozak R.R., Nakashima T., Nishimoto T., Rothman J.H. // *EMBO J.* 1995. Vol. 14. P. 4434—4441.
173. Sun X.-M., MacFarlane M., Zhuang J., Wolf B.B., Green D.R., Cohen G.M. // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 5053—5060.
174. Sun Y.L., Zhao Y., Hong X., Zhai Z.H. // *FEBS Lett.* 1999. Vol. 462. P. 317—321.
175. Sun Y.L., Zhu H.Z., Zhou J., Dai Y.R., Zhai Z.H. // *Cellular Mol. Life Sci.* 1999. Vol. 55. P. 310—316.

176. Takada S., Shirakata Y., Kaneniwa N., Koike K. // *Oncogene*. 1999. Vol. 18. P. 6965—6973.
177. Tamagnone L., Merida A., Stacey N., Plaskitt K., Parr A., Chang C.F., Lynn D., Dow M.J., Roberts K., Martin C. // *Plant Cell*. 1998. Vol. 10. P. 1801—1816.
178. Tanaka Y., Makishima T., Sasabe M., Ichinose Y., Shiraishi T., Nishimoto T., Yamada T. // *Plant Cell Physiol*. 1997. Vol. 38. P. 379—383.
179. Thelen M.P., Northcote D.H. // *Planta*. 1989. Vol. 179. P. 181—195.
180. Tiedemann A.V. // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 1997. Vol. 50. P. 151—166.
181. Torres M.A., Onouchi H., Hamada S., Machida C., Hammond-Kosack K.E., Jones J.J. // *Plant J.* 1998. Vol. 14. P. 365—370.
182. Trofimova M.S., Smolenskaya I.N., Drabkin A.V., Galkin A.V., Babakov A.V. // *Physiol. Plant*. 1997. Vol. 98. P. 215—221.
183. Van Camp W., Van Montagu M., Inze D. // *Trends Plant Sci.* 1998. Vol. 3. P. 330—334.
184. van der Biezen E.A., Jones J.D.G. // *Curr. Biol.* 1998. Vol. 8. R226—R227.
185. Vanyushin B.F., Alexandrushkina N.I., Kirnos M.D. // *FEBS Lett.* 1988. Vol. 233. P. 397—399.
186. Vanyushin B.F., Kirnos M.D. // *Gene*. 1988. Vol. 74. P. 117—121.
187. Vanyushin B.F., Mazin A.L., Vasiliev V.K., Belozersky A.N. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1973. Vol. 299. P. 397—403.
188. Vanyushin B.F., Nemirovsky L.E., Klimenko V.V., Vasiliev V.K., Belozersky A.N. // *Gerontologia (Basel)*. 1973. Vol. 19. P. 138—152.
189. Vanyushin B.F., Tkacheva S.G., Belozersky A.N. // *Nature*. 1970. Vol. 225. P. 948—949.
190. Vardi A., Berman-Frank I., Rozenberg T., Hadas O., Kaplan A., Levine A. // *Curr. Biol.* 1999. Vol. 23. P. 1061—1064.
191. Vlasova T. I., Demidenko T.I., Kirnos M.D., Vanyushin B.F. // *Gene*. 1995. Vol. 157. P. 279—281.
192. Wang H., Li J., Bostock B. M., Gilchrist D.G. // *Plant Cell*. 1996. Vol. 8. P. 375—391.
193. Wang M., Hoekstra S., van Bergen S., Lamers G.E.M., Oppedijk B.J., van der Heijden M.W., de Priester W., Schilperoort R.A. // *Plant Mol. Biol.* 1999. Vol. 39. P. 489—501.
194. Wang M., Oppedijk B.J., Lu X., van Duijn B., Schilperoort R.A. // *Plant Mol. Biol.* 1996. Vol. 32. P. 1125—1134.
195. Weymann K., Hunt M., Uknes S., Neuenschwander U., Lawton K., Steiner H.Y., Ryals J. // *Plant Cell*. 1995. Vol. 7. P. 2013—2022.
196. Woffenden B.J., Freeman T.B., Beers E.P. // *Plant Physiol.* 1998. Vol. 118. P. 419—430.
197. Wojtaszek P. // *Biochem. J.* 1997. Vol. 322. P. 681—692.
198. Wolf B.B., Green D.R. // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 20049—20052.
199. Wyllie A.H. // *Inter. Rev. Cytol.* 1980. Vol. 68. P. 251—306.
200. Xie Z., Chen Z. // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2000. Vol. 13. P. 183—190.
201. Xing H., Zhang S., Weinheimer C., Kovacs A., Muslin A.J. // *EMBO J.* 2000. Vol. 19. P. 349—358.
202. Xu F.X., Chye M.L. // *Plant J.* 1999. Vol. 17. P. 321—327.
203. Xu Y., Hanson M.R. // *Plant Physiol.* 2000. Vol. 122. P. 1323—1334.
204. Yang Z., Watson J.C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. Vol. 90. P. 8732—8736.
205. Yano A., Suzuki K., Shinshi H. // *Plant J.* 1999. Vol. 18. P. 105—109.

-
206. *Yen C.H., Yang C.H.* // *Plant and Cell Physiol.* 1998. Vol. 39. P. 922—927.
207. *Young T.E., Gallie D.R.* // *Plant Mol. Biol.* 2000. Vol. 42. P. 397—414.
208. *Yu I.C., Parker J., Bent A.F.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. Vol. 95. P. 7819—7824.
209. *Zhao Y., Jiang Z.F., Sun Y.L., Zhai Z.H.* // *FEBS Lett.* 1999. Vol. 448. P. 197—200.
210. *Zhou J., Zhuo H.Z., Dai Y.R.* // *Plant Growth Regul.* 1999. Vol. 27. P. 119—123.