

THE DEGRADATION PROCESSES IN PLANTS

I. A. TARCHEVSKY

This article examines the main ideas concerning the degradation process of biopolymers and lipids in plants, about which little is known. Particular attention is given to the signal functions of the intermediate products of lipids, proteins and polysaccharides catabolism in connection to their great role in adaptation to the unfavorable conditions.

Рассмотрены основные сведения об еще относительно мало изученных процессах деградации биополимеров и липидов у растений. Особое внимание уделено сигнальной функции промежуточных продуктов (интермедиатов) катаболизма липидов, белков и полисахаридов, в связи с их ролью в адаптации к неблагоприятным условиям существования.

ПРОЦЕССЫ ДЕГРАДАЦИИ У РАСТЕНИЙ

И. А. ТАРЧЕВСКИЙ

Казанский государственный университет

“Только совокупность двух процессов, созидания и разрушения, характеризует живое тело. Организм живет только пока разрушается”.

К.А. Тимирязев

ВВЕДЕНИЕ

Десять лет тому назад при изучении особенностей синтеза белков хлоропластов из ^{14}C -аминокислот мы обратили внимание на то, что несколько полипептидов имеют низкое содержание и в то же время необычно высокую удельную радиоактивность. Это могло быть только в том случае, когда наряду с интенсивным синтезом этих полипептидов происходил их быстрый распад. Причины и последствия этого явления настолько нас заинтересовали, что почти вся лаборатория, в том числе группа, занимавшаяся изучением синтеза липидов хлоропластов, была переключена на исследование деградации (катаболизма) сложных соединений, а не их синтеза (анаболизма).

Изучение деструкции биополимеров и липидов сопряжено гораздо больше с методическими трудностями, чем их синтеза. Это главным образом и предопределяет неизмеримо меньшее число публикаций, посвященных процессам катаболизма биополимеров и липидов. Другая причина — недооценка функциональной роли процессов деградации сложных соединений у растений, что, вероятно, определяется меньшей очевидностью этих процессов. Если у животных первый этап питания представляет собой деградацию поглощаемых органических соединений в пищеварительной системе, то у растений, наоборот, первый этап углеродного питания — это фотосинтез — образование сложных органических соединений из неорганических за счет энергии света. В данной статье я постараюсь показать, что процессы деградации имеют большое значение и у растений.

РОЛЬ ПРОЦЕССОВ ДЕГРАДАЦИИ

Можно говорить о множественной роли процессов катаболизма. Во-первых, роль корректирующего фактора. Деструкция обеспечивает устранение биополимеров с ошибочной или нарушенной структурой. Во-вторых, субстратная роль. Процессы катаболизма снабжают синтез биополимеров мономерными субстратами, а синтез липидов — ацетатом, что особенно важно в условиях недостаточного

насыщения клеток этими веществами. В-третьих, энергетическая роль. При вовлечении мономерных продуктов и ацетата в процессы дыхания образуются АТФ и НАД(Ф)Н, обеспечивающие протекание реакций синтеза сложных соединений из простых. В-четвертых, сигнальная функция. Накапливается все больше информации о том, что некоторые олигонуклеотиды, олигопептиды и олигосахариды, являющиеся продуктами деградации соответствующих полимеров, а также промежуточные продукты деградации липидов обладают свойствами гормонов или активаторов и ингибиторов различных процессов метаболизма и в конечном итоге оказывают влияние на рост и морфогенез растений. Мною в 1991 году была выдвинута концепция о сигнальных свойствах олигомерных промежуточных продуктов катаболизма, реализуемых путем воздействия на транскрипцию, трансляцию или на активность ранее образованных молекул ферментов, связанных с процессами синтеза (рис. 1). Усиление деградации и в результате увеличение содержания промежуточных продуктов катаболизма приводит к активации синтеза новых молекул биополимеров вместо разрушающихся.

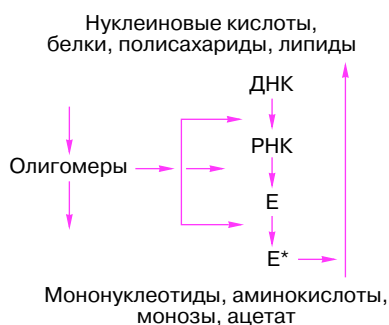


Рис. 1. Схема взаимосвязи катаболизма и анаболизма биополимеров и липидов, отражающая субстратную и сигнальную функции процессов деградации.

Это справедливо и по отношению к промежуточным продуктам деградации липидов растений, в состав которых входят ненасыщенные жирные кислоты — линолевая и линоленовая, обладающие соответственно двумя и тремя двойными связями.

ИЗМЕНЕНИЯ В ИНТЕНСИВНОСТИ ПРОЦЕССОВ ДЕГРАДАЦИИ

Деградация биополимеров и липидов катализируется гидролазами и другими ферментами. Активность этих ферментов контролируется различными внутриклеточными активаторами и ингибиторами. Интенсивность процессов деградации изменяется в ходе онтогенеза и зависит от условий существования растений. Например, наиболее низка интен-

сивность процессов катаболизма у покоящихся семян, клубней и других органов растений. Выход из состояния покоя этих органов приводит к активации распада сложных запасных веществ (белков, крахмала, жирных кислот и др.). Процессы старения растения в целом или его отдельных органов сопровождаются усилением деградационных процессов.

Понижение температуры приводит к снижению скорости реакций распада биополимеров и липидов. Активация деградации наблюдается при действии на растения высокой температуры, атмосферной засухи и вообще при начинающемся стрессе. Известно, что стресс — ответная реакция растений на действие эколого-климатических, антропогенных и биогенных неблагоприятных факторов (стрессоров), включает несколько стадий: 1) тревоги, 2) адаптации, 3) истощения. Одной из главных особенностей первой стадии является резкое усиление процессов распада липидов и биополимеров.

ДЕГРАДАЦИЯ ЛИПИДОВ

Анализ событий, совершающихся в клетках с момента начала действия того или иного стрессора, заставляет считать, что имеется небольшое число наиболее лабильных (чувствительных) компонентов клеточных структур и звеньев метаболизма, которые выполняют роль пускового механизма, вызывающего последующие глобальные нарушения, проявляющиеся в виде неспецифических изменений в обмене веществ. По всей вероятности, функцию спускового крючка, на который “нажимают” разнообразные стрессоры и который приводит в действие сложный механизм ответа, в большинстве случаев выполняют мембранные системы.

Так же как большинство биополимеров, липиды мембран постоянно обновляются, то есть одновременно с синтезом происходит их распад. В зависимости от скоростей этих процессов у индивидуальных липидов происходит изменение их соотношения, а значит, и свойств мембран. Например, повышение содержания ненасыщенных жирных кислот приводит к повышению “текучести” мембран.

Своеобразным стартом, с которого начинается деградация липидов, являются ферментативные реакции гидролиза сложноэфирных связей. Освоившиеся ненасыщенные жирные кислоты представляют опасность для клетки, так как выступают в роли разобщителей образования АТФ и электронного транспорта в хлоропластах и митохондриях. Однако накопления этих токсических соединений не происходит вследствие их быстрой метаболизации.

Можно говорить о трех основных путях превращения жирных кислот у растений.

1. Бета-окисление — главный путь деградации насыщенных жирных кислот, основными продуктами которого являются уксусная кислота, АТФ и восстановитель. В результате каждого цикла бета-окисления цепь жирной кислоты укорачивается на

два углеродных атома со стороны карбоксильной группы.

2. Альфа-окисление — катаболизм насыщенных жирных кислот, которые превращаются в углекислый газ и молекулы восстановителя. При альфа-окислении цепь жирной кислоты укорачивается на один атом углерода.

3. Оксигеназный путь деградации ненасыщенных жирных кислот линолеата и линолената. Именно этот путь является поставщиком сигнальных молекул, способных оказывать влияние на функционирование и морфогенез растений. В связи с тем, что он еще не получил освещения в учебниках и учебных пособиях, я постараюсь более или менее подробно описать последовательность реакций образования оксигенированных производных ненасыщенных жирных кислот, тем более что наша лаборатория много сделала для расширения путей превращения линолевой и линоленовой кислот.

Липоксигеназная реакция оксигенирования (присоединения кислорода) одной из двойных связей пентадиенового участка линолевой или линоленовой кислот ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$) приводит к появлению гидропероксидного радикала $-\text{OON}$. В ходе дальнейших превращений линолевой и линоленовой кислот появляется большое количество гидроперокси-, гидрокси-, кето-, альдо-, эпоксиформ (рис. 2), среди которых есть цис- и транс-изомеры; циклических форм (аналогов гормонов — простангландин у животных), а также экзотических производных, содержащих алленовые, ацетиленовые и разветвленные группы. Укорочение жирных кислот в результате бета-окисления или в результате ферментативного разрезания молекулы между 9-м и 10-м или 12-м и 13-м углеродными атомами приводит к появлению еще большего количества производных свободных ненасыщенных жирных кислот. Двойная связь в ходе реакции оксигенирования сдвигается на одно положение с образованием сопряженного диена. Если

происходит двойное оксигенирование линолената, то возможно образование сопряженного триена ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$). Важно, что механизм оксигенирования включает стадию образования свободных радикалов.

Гидроперекиси жирных кислот могут претерпевать последующие превращения в результате реакций, катализируемых ферментами гидропероксидлиазой, гидропероксиизомеразой, гидропероксидциклазой и другими (рис. 3). В результате гидропероксидлиазных реакций образуются 6-, 9- и 12-углеродные производные гидропероксиформ ненасыщенных жирных кислот. Шестиуглеродные ароматические альдегиды (гексенали) обеспечивают аромат свежескошенной травы. Они появляются очень быстро — уже через 15 секунд после механического повреждения листьев — и свидетельствуют о высокой скорости осуществления всей цепочки превращений — от активации липаз до образования летучих веществ, которые обладают бактерицидными и фунгицидными свойствами и таким образом выполняют защитные функции.

Еще один путь метаболизации гидропероксидов ненасыщенных жирных кислот — это образование гидрокси- и эпокси-производных, катализируемое гидропероксидзависимой оксигеназой (пероксигеназой), осуществляющей перенос одного атома кислорода от гидропероксидных радикалов жирных кислот (которые преобразуются в гидроксильные радикалы) на двойную связь олеата или линолеата с образованием эпоксида. Эпоксируется преимущественно двойная связь цис-9, 10, а не цис-12, 13 линолеата. Транс-двойные связи практически не участвуют в реакции. Обнаружено образование в небольших количествах диэпоксида. Гидрокси- и эпоксипродукты играют важную роль в защите растений от грибной инфекции. Они обычно обнаруживаются в семенах растений, устойчивых к грибам-патогенам, но, возможно, действуют не только

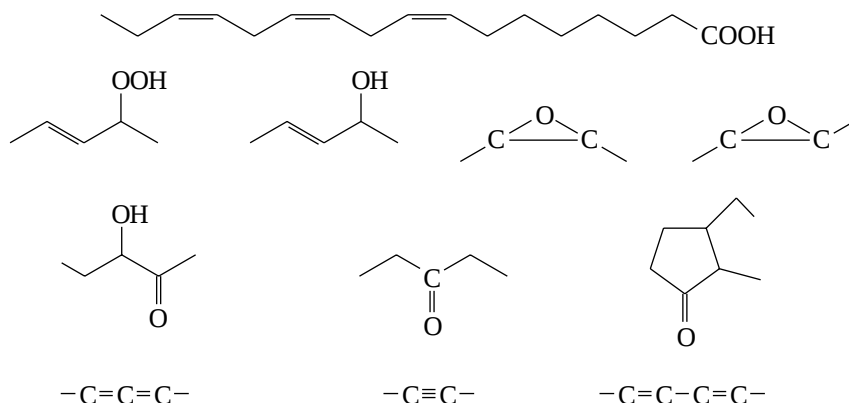


Рис. 2. Различные радикалы, содержащиеся в оксигенированных производных линолевой и линоленовой кислот. Сверху — молекула линоленовой кислоты.

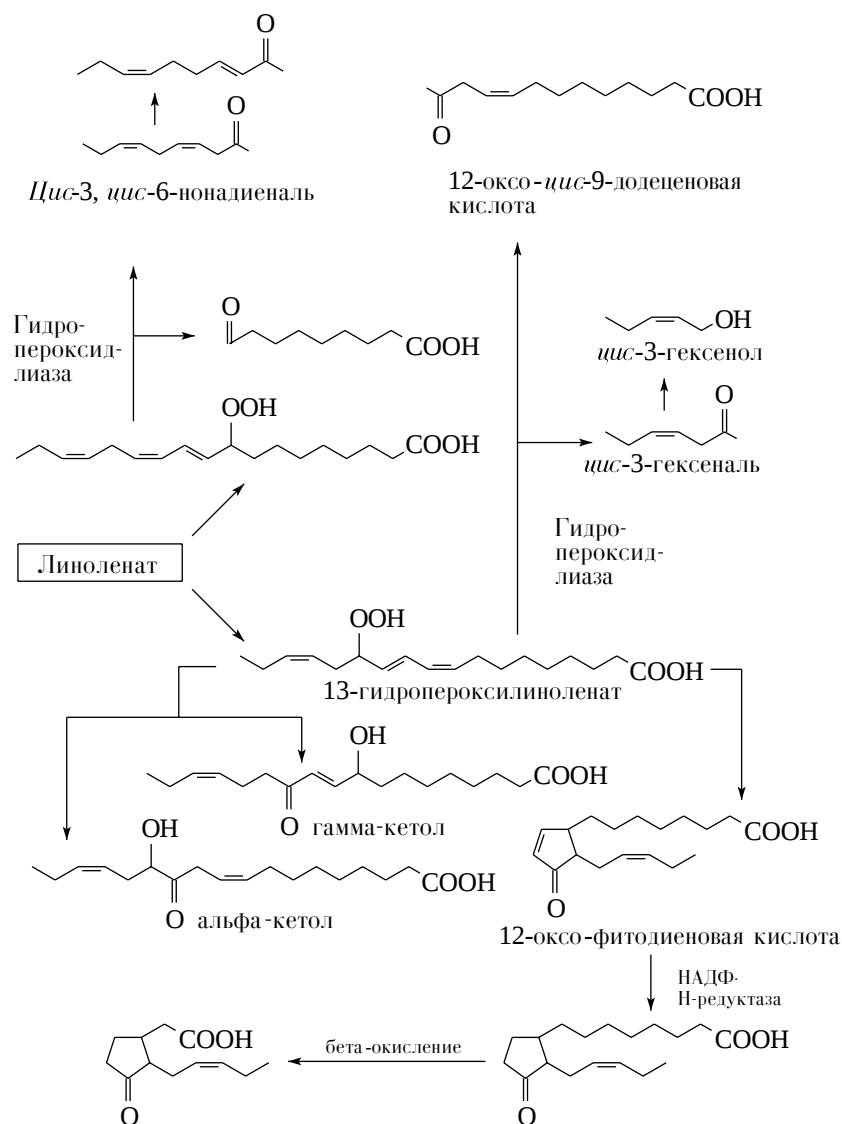


Рис. 3. Основные пути превращения линоленовой кислоты в клетках растений.

ингибирующе на клетки патогена, но и стимулирующе на развитие проростков хозяина.

Еще одна последовательность реакций превращения гидропероксидов жирных кислот приводит к образованию простагландиноподобных соединений в результате гидропероксидциклизационной реакции (см. рис. 3). Продуктами этих реакций являются жасмоновая кислота и метилжасмонат, которые многие исследователи относят к числу фитогормонов. В нашем отделе А.Н. Гречкин с сотрудниками проводили систематическую работу по расшифровке структуры производных полиненасыщенных жирных кислот. За несколько лет исследований было обнаружено более 15 неизвестных ранее производных линолевой и линоленовой кислот. Некоторые из

них обладают способностью стимулировать рост растений и каллусных тканей. Отмечено ускорение выхода семян из состояния покоя, усиление роста главного корня и новообразования боковых корней. Имеются данные о ростстимулирующем, фунгицидном, репеллентном, разобщающем, антиопухолевом и других свойствах оксигенированных производных жирных кислот.

Так как многие оксигенированные производные полиненасыщенных жирных кислот, освобождающихся из мембранных фосфо- и гликолипидов при стрессе, обладают регуляторными функциями, то становится очевидным, что изменение соотношения этих производных в зависимости от специфики стресса (вызванной продолжительностью действия

и силой стрессора, сочетанием нескольких стрессоров и т.д.) может оказать достаточно ощутимое влияние на процессы адаптации в клетках растений.

ДЕГРАДАЦИЯ БЕЛКОВ

В клетках растений содержатся тысячи видов белков, отличающихся количеством, локализацией в различных компартментах клетки (включая клеточную стенку), растворимостью (например, в цитозоле или липидах мембран) и т.д. Время жизни новообразованных белков зависит от многих факторов, но в первую очередь — от первичной структуры, конформационных изменений белковых молекул (что определяет атакуемость протеиназами), посттрансляционной модификации белковых цепей и от активности протеиназ.

Изменение первичной структуры белков в результате мутации генов или ошибок в транскрипции и трансляции, а также определенные посттрансляционные модификации отдельных остатков аминокислот в белках значительно сокращают время жизни таких белков. В то же время имеются некоторые посттрансляционные модификации аминокислот в полипептидах, которые обеспечивают увеличение времени их жизни. Изменение степени нативности белков, вызванное различными денатурирующими причинами, приводит, как правило, к более интенсивному их распаду.

Появляется все больше работ, посвященных изучению протеолитических ферментов в растительных клетках, их локализации, характеристике их свойств, особенностям образования и регуляции их активности. Эти ферменты гидролизуют пептидные связи $-\text{CO}-\text{NH}-$, соединяющие соседние остатки аминокислот в белках. Имеются протеиназы, отщепляющие концевую аминокислоту (экзопептидазы) и расщепляющие пептидные связи внутри белковой молекулы (эндопептидазы), что приводит к появлению более мелких поли- и олигопептидов. Характер протеолиза зависит от специфичности ферментов (узнающих “свои” аминокислотные последовательности) и доступности разрезаемых пептидных связей для атакующих ферментов. Обычно протеолитический процесс направлен на разрыв относительно гибких междоменных участков белка или расположенных на поверхности петель (рис. 4).

Активность протеиназ контролируется многими факторами, например, ионным окружением, концентрацией ионов кальция, кальмодулинподобным кальцийсвязывающим белков, ингибиторами белковой природы и т.д. Было обнаружено, что простетические группы сложных белков защищают их от протеолиза. Показано, что гемоглобин более устойчив по сравнению с глобином, лишенным гема.

В эукариотических клетках функционирует несколько механизмов деградации белков.

1. Убиквитин, АТФ-зависимый протеолиз. Убиквитин — это широко распространенный “вез-

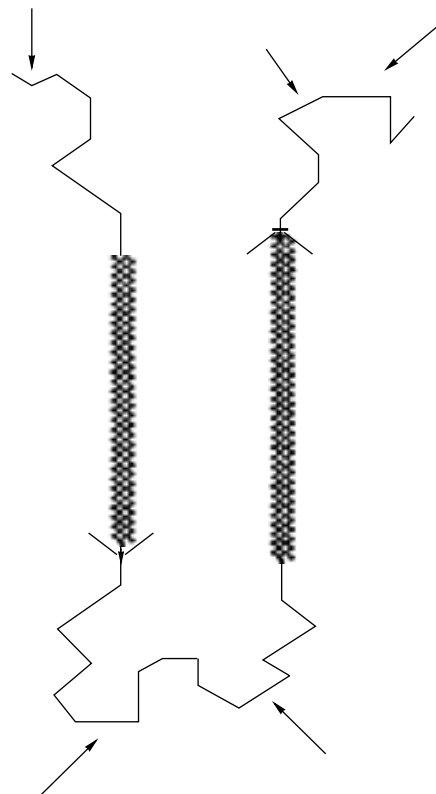


Рис. 4. Схема атаки молекулы белка протеиназами (обозначены стрелками).

дущий белок”. Образование комплекса убиквитина с белком-субстратом изменяет конформацию последнего и облегчает атаку протеазами. По этому механизму осуществляется деградация белков с небольшим временем жизни и аномальных белков.

2. Кальцийзависимые протеазы осуществляют деградацию многих белков, но особенно важны в протеолизе цитоскелетных структур.

3. АТФ-зависимый, но не требующий участия убиквитина, протеолиз.

4. Независимый ни от АТФ, ни от убиквитина путь деградации белков, определяющийся, по-видимому, лишь структурными особенностями атакуемых протеазами полипептидов.

5. Протеолиз ферментами лизосом — специальных органоидов, осуществляющих лизис (“переваривание”) самых различных сложных веществ клеток.

Время полужизни атакуемых экзопроотеиназами белков *in vivo* зависит от вида N-концевой аминокислоты. По-видимому, продолжительность существования долгоживущих белков лимитируется отщеплением “устойчивой” N-концевой аминокислоты, что обнажает следующую за ней “дестабилизирующую” аминокислоту и приводит к еще большей атакуемости субстратного белка эндо- и

экзопротеиназами. Таким образом, протеолитический каскад может начинаться с гидролиза как пептидной связи внутри молекулы белка, так и N-концевой связи. В результате протеолитического каскадного процесса могут образовываться физиологически активные олигопептиды, стимулирующие рост и морфогенез растений, усиливающие синтез РНК и др.

Опыты, проведенные в нашей лаборатории, показали, что пентапептидный гормон животных мет-энкефалин в концентрации 10^{-9} М в 1,5 раза усиливал, а при концентрациях 10^{-5} – 10^{-7} М снижал синтез белков в листьях редиса. Было также обнаружено стимулирующее действие ди- и трипептидов.

В последние годы все больше исследований посвящается белковым ингибиторам протеиназ, которые широко распространены в растениях и выполняют функцию регуляции протеолиза. У растений интенсивная выработка ингибиторов протеиназ наблюдается при стрессе – при механических повреждениях (в том числе, например, листогрызущими насекомыми), при действии различных патогенов и т.д.

ДЕГРАДАЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Проблема катаболизма ДНК и различных форм РНК чрезвычайно важна, так как связана с особенностями хранения и реализации генетической информации. В настоящее время выделены и изучены многие ферменты (нуклеазы), катализирующие деградацию нуклеиновых кислот, зависимость этого процесса от состояния клеток растений. Можно привести всего один пример, чтобы понять, насколько большое значение имеет деградация нуклеиновых кислот: от интенсивности распада молекул вновь образованных молекул тРНК зависит время их жизни, а значит, и продолжительность синтеза кодируемых ими белков, то есть эффективность экспрессии генов. Имеются сведения о большой значимости продуктов неполной деградации нуклеиновых кислот (олигонуклеотидов) для регуляции процессов транскрипции и трансляции. Представляется, что детальному описанию особенностей деградации нуклеиновых кислот должна быть посвящена отдельная статья.

ДЕГРАДАЦИЯ ПОЛИСАХАРИДОВ

Известно большое количество гликозилаз-ферментов, гидролизующих различные запасные и структурные полисахариды растительных клеток. Наиболее изученным процессом деградации запасных полисахаридов является амилолиз – ферментативный распад крахмала.

Ряд работ посвящен ферментам, катализирующим деградацию полисахаридов клеточных стенок. Отмечается, что гидролазы, осуществляющие катаболизм полимеров клеточных стенок, принимают участие в осуществлении множества физиолого-био-

химических процессов: мобилизации полисахаридов в стареющих метамерных органах (с последующей транспортировкой продуктов деградации в другие органы, особенно в генеративные); мобилизации полисахаридов клеточных стенок в семенах при их прорастании; роста и дифференциации клеток и тканей; формировании проводящих путей растений – сквозных сосудов ксилемы и пор в ситовидных клетках флоэмы, отделительного слоя черешков листьев и плодов (вызывающих их опадание); созревании плодов – размягчении тканей их мякоти; защите тканей от патогенов. В гидролизе полисахаридов клеточных стенок принимают участие эндо- и экзогликозилазы. Эндоцеллюлазная активность используется, например, при частичном гидролизе целлюлозных микрофибрилл и разрыхлении первичной клеточной стенки, необходимых для удлинения клеток.

Наибольшее продвижение в понимании сигнальной (регуляторной) функции олигомерных продуктов катаболизма у растений и осмыслении их роли было достигнуто при изучении катаболизма полисахаридов клеточных стенок высших растений, грибов и бактерий. Впервые в лаборатории П. Элберсгейма, а затем и в других лабораториях было показано, что олигогликозиды, образующиеся в результате патоген-индуцированной эндогликозидазной деградации гемицеллюлоз, пектиновых веществ, хитина и хитозана, могут играть роль элиситоров (ускорителей), индуцирующих экспрессию генов, синтез различных фитоалексинов (растительных антибиотиков, подавляющих инфекцию) и т.д.

Была расшифрована структура ряда физиологически активных олигосахаридов, например, разветвленного гептаглюкана (рис. 5), полученного из клеточных стенок патогенного гриба, олигогалактуронидов, образующихся при гидролизе пектиновых веществ, олигосилоглюканов, полученных из

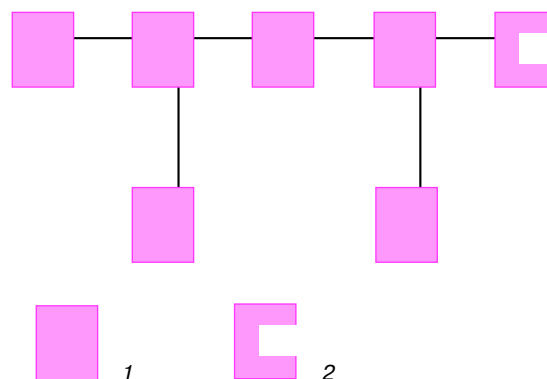


Рис. 5. Разветвленный гептаглюкан – наиболее активный олигосахарид, образующийся при гидролизе полисахаридов клеточных стенок патогена. 1 – нередуцирующий остаток глюкозы, 2 – редуцирующий остаток глюкозы.

гемицеллюлоз. Изучение механизма действия олигосахаридов на растения позволило установить, что спектр ответных реакций зависит от концентрации и структуры этих веществ. В результате действия этих соединений на клетки может изменяться экспрессия генов. Это приводит к синтезу ферментов, которые отсутствовали в клетках, что вызывает существенное изменение обмена веществ, сопровождающееся, например, повышением устойчивости к бактериальной, грибной или вирусной инфекции, изменением темпов роста растений. Важным этапом в выяснении действия олигосахаридов было установление факта существования в клеточных мембранах растений олигосахаридсвязывающих участков — рецепторов. Нековалентное связывание олигосахаридов с этими рецепторами вызывало накопление фитоалексинов в тканях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, мы убедились в большой значимости процессов деградации биополимеров и липидов для жизнедеятельности растений. Очень важно для практики сельского хозяйства, для медицины и биотехнологии, что многие из промежуточных продуктов деградации липидов, белков, нуклеиновых кислот и полисахаридов являются природными биологически активными веществами — стимулято-

рами роста растений, бактерицидами, фунгицидами, репеллентами, ингибируют опухолевый рост и т.д. Последовательность реакций деградации биополимеров и липидов и роль промежуточных продуктов их распада в регуляции метаболизма остаются одной из наименее изученных областей физиологии и биохимии растений и, несомненно, будут долгое время привлекать внимание исследователей.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ленинджер А.* Основы биохимии (в трех томах). М.: Мир, 1985.
2. *Тарчевский И.А.* Регуляторная роль деградации биополимеров и липидов. Физиология растений. 1992. Т. 39. № 6. С. 1215 — 1223.
3. *Тарчевский И.А.* Катаболизм и стресс у растений. 52 Тимирязевские чтения. М.: Наука. 1993. 80 с.

* * *

Игорь Анатольевич Тарчевский, действительный член Российской Академии наук, вице-президент Всероссийского общества физиологов растений, председатель Президиума Казанского научного центра Российской Академии наук. Основные работы — в области фотосинтеза, метаболизма полисахаридов клеточных стенок, белков и липидов растений. Автор более 150 печатных работ, в том числе 5 монографий и учебного пособия.