

УДК 58.02: 577.29

Р.И. Берсимбаев

Институт клеточной биологии и биотехнологии ЕНУ им. Л.Н. Гумилева,  
Республика Казахстан, г. Астана  
E-mail:

### Роль TOR-сигнальной системы в механизмах адаптации растений к солевому стрессу

TOR-сигнальная система присутствует у большинства видов эукариот и играет ключевую роль как в регуляции процессов роста и развития организмов, так и формировании метаболического ответа клетки на действие различных стрессовых факторов. Рост растений, в отличие от животных, в значительной степени зависит от изменений внешних условий. Для поддержания клеточного гомеостаза они должны адаптироваться к множеству эндогенных и экзогенных сигналов, происходящих из биотических и абиотических стрессов. В данном кратком обзоре рассматривается роль TOR-сигнальной системы в физиологических механизмах адаптации растений к солевому стрессу и участие в этом процессе абсцизовой кислоты.

**Ключевые слова:** TOR-киназа, *Arabidopsis thaliana*, AtTOR гены, солевой стресс, абсцизовая кислота.

R.I. Bersimbaev  
?????

TOR kinase is present in most eukaryotic species and plays a key role in the regulation of growth and development of organisms and the formation of metabolic response of the cells to the action of various stress factors. Unlike animals, the growth of plants largely depends on changes in external conditions. Therefore, to maintain cellular homeostasis they should be adapted to a plurality of endogenous and exogenous signals originating from biotic and abiotic stresses. In this short review the possible biochemical and physiologic mechanisms of plant adaptation to salt stress and the role of abscisic acid in regulation of TOR signaling pathways are discussed.

**Key words:** TOR-kinase, *Arabidopsis thaliana*, AtTOR genes, salt stress, abscisic acid.

Р.И. Берсимбаев  
?????

TOR киназа эукариотты организмдердің көпшілігінде кездеседі. Олар организмнің өсуі мен даму процесінің реттелуіне қатысып, әртүрлі стресс факторларының әсеріне клетканың метаболизмдік жауабының қалыптасуында маңызды рөл атқарады. Жануарлармен салыстырғанда өсімдіктердің өсуі белгілі жағдайда сыртқы орта жағдайларына тәуелді болады. Сондықтан өсімдіктер клетканың гомеостазын сақтау үшін биотикалық және абиотикалық стрестер тудырған көптеген эндогенді және экзогенді сигналдарға бейімделуі керек. Мақалада өсімдіктердің тұзды стресске адаптациялық жауап беруде абсциз қышқылының биохимиялық және физиологиялық механизмдері қарастырылып, гормонның өсімдіктердің TOR сигналдық жүйесіне әсері талқыланады.

**Түйін сөздер:** TOR-киназа, *Arabidopsis thaliana*, AtTOR гендер, тұзды стресс, абсциз қышқылы.

Основные клеточные функции организмов обеспечиваются сложной сетью биохимических процессов и сигнальных путей, осуществляющих регуляцию клеточного метаболизма в

ответ на воздействие внешних сигналов. TOR-сигнальный путь является одной из основополагающих сигнальных систем в клетках эукариотических организмов [1-3]. TOR киназа

относится к семейству фосфоинозитидкиназ (англ. *Phosphoinositidekinase-related kinases*, PIKK) и является эволюционно консервативным белком, присутствующим во всех эукариотических клетках и функционирующим как сенсор уровня питательных веществ и энергии в клетке, а также окислительно-восстановительного статуса [4-5].

В клетках млекопитающих mTOR (англ. mammalian *Target of Rapamycin*) существует в виде каталитической субъединицы в составе двух комплексов – mTORC1 и mTORC2. mTORC1 комплекс включает белки Raptor, mLST8, известный также как GβL-белок, PRAS40 и белок Deptor [6-7]. mTORC1 регулирует клеточный рост и размер клеток, активируя множество анаболических процессов, включая биосинтез белков, липидов и органелл, биогенез митохондрий, а также ограничивая катаболические процессы, такие как аутофагия [2]. mTORC1 комплекс участвует в регуляции синтеза белка путем фосфорилирования 4E-BP1 и S6K1-белков, и его принято также называть рапамицин-чувствительным комплексом в связи с тем, что последний, образуя комплекс с внутриклеточным рецептором FKBP12, способен ингибировать активность mTORC1 путем связывания с FRB доменом [7]. В состав mTORC2 комплекса входят mTOR, рапамицин-нечувствительный спутник mTOR – Rictor, mLST8, mSIN1, Protor 1 и Deptor. Установлено, что mTORC2 играет ключевую роль в пролиферации, метаболизме и выживании клеток, организации цитоскелета [2,8].

Некоторые члены TOR комплекса 1- Raptor и mLST8/GβL – белки, TOR-субстраты и регуляторы TOR сигналинга имеются и у растений [9,10]. В геноме арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*), например, представлено два LST8/GβL гомолога (At3g18140, At2g22040) [11]. В свою очередь TORC1-специфический белок Raptor/KOG1 у арабидопсиса представлен двумя вариантами: AtRaptor1A (At5g01770) и AtRaptor1B (At3g08850). Показано, что мутация AtRaptor1B в растениях дает широкий спектр дефектов развития: нарушение роста корней и листьев, нарушение формирования почек и соцветий, уменьшение ростовой активности апикальных меристем [12]. Имеется два гомолога киназы S6K у *Arabidopsis* [13], что повышает возможность того, что TOR сигнализация у растений осуществляется через данные эффекторы. Эффектор 4E-BP не был идентифицирован в геноме *Arabidopsis*.

В настоящее время нет доказательств существования TORC2 комплекса у растений, поскольку гены, кодирующие специфические компоненты этого комплекса, такие как AVO1/hSIN1 или AVO3/Rictor, отсутствуют в геноме фотосинтезирующих организмов [14]. Однако во всех секвенированных на данный момент растительных геномах были найдены гены, кодирующие последовательность TOR-киназы [13,15]. По аналогии с клетками млекопитающих и учитывая высокую эволюционную консервативность протеинкиназы TOR было сделано предположение о вовлеченности pTOR (англ. plantTOR) в регуляцию клеточного роста, метаболизма и выживания растительных клеток [9,10]. Однако в противоположность TOR сигнальной системе млекопитающих в настоящее время pTOR-киназная система растений изучена недостаточно. На рис.1 представлена сравнительная характеристика TOR-сигнальной системы млекопитающих (А) и растения *Arabidopsis thaliana* (Б).

В клетках млекопитающих ростовые факторы стимулируют mTORC1 путем активации инсулинового и Ras-сигнальных путей, стимуляция которых увеличивает фосфорилирование TSC2 – Akt /PBK, вследствие чего происходит инактивация Tsc1/2 и активация mTORC1 [2]. Для TOR-сигнальной системы растений пути активации комплекса TORC1 неизвестны. Возможные регуляторы активности TOR-комплекса на рисунке указаны вопросительными знаками и стрелками.

Рост растений, в отличие от животных, в значительной степени зависит от изменений внешних условий. Растения являются автотрофными организмами, которые используют неорганические питательные вещества и свет как источники пищи, однако они не могут избежать воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды. Поэтому для поддержания клеточного гомеостаза они должны адаптироваться к множеству эндогенных и экзогенных сигналов, происходящих из биотических и абиотических стрессов. Причем у растений данные факторы влияют не только на темпы роста, но и на количество развивающихся вегетативных органов и генеративные процессы, такие как сроки цветения, формирование семян и плодов и т.д.

Эффективным и широко распространенным способом изменения активности ферментов и других белков, задействованных в стрессовых реакциях, является один из видов их пост-

трансляционной модификации путем фосфорилирования. Фосфорилирование играет важную роль в формировании генетического материала, трансляции белка, построении биологических мембран и во многих других внутриклеточных

процессах. Реакции фосфорилирования белков катализируют различные виды протеинкиназ. Безусловно, что одной из важнейших протеинкиназ в растительных клетках является киназа TOR.

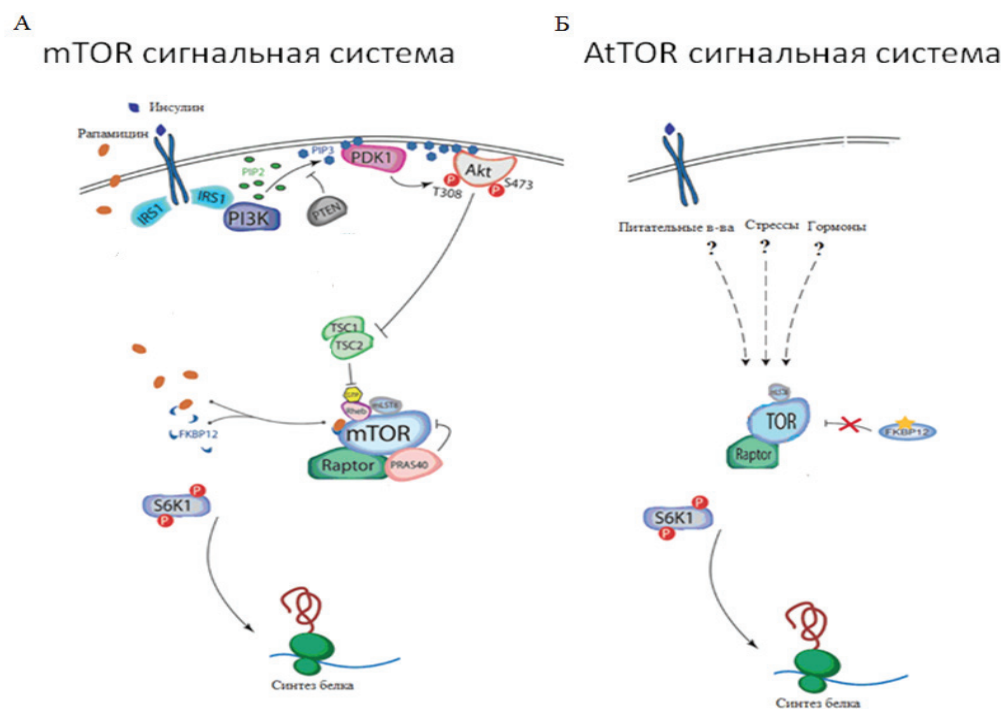


Рисунок 1 – Сравнительная характеристика TOR-сигнальной системы млекопитающих (А) и растения *Arabidopsis thaliana* (Б).

Недавние исследования показали непосредственное участие TOR сигнальной системы растений в механизмах адаптации последних к неблагоприятным условиям окружающей среды [14,16]. Так, имеются данные о возможности ингибирования киназной активности S6K1 осмотическим стрессом [17]. В экспериментах с растениями *Arabidopsis*, мутантными по гену Raptor ранее было показано, что эмбрионы, несущие подобные мутации, характеризовались гиперчувствительностью к различным видам стресса [11,13].

Deprost и соотр. [18] изучали влияние уровня экспрессии AtTOR на размер корней в условиях повышенного и сниженного содержания азота в почве. Растения с гиперэкспрессией гена AtTOR, выращенные в присутствии избытка нитратов имели хорошо развитую корневую систему, в то время как у контрольных линий повышенное содержание нитратов в почве тормозило рост корней. Использование высоких концентраций

хлорида калия показало снижение скорости роста корней у так называемых «AtTOR-молчащих» линий, с пониженной экспрессией гена AtTOR. В то время как мутанты с гиперэкспрессией AtTOR характеризовались хорошо развитой корневой системой в условиях солевого стресса по сравнению с диким типом. Кроме того «AtTOR-молчащие» линии также показали более высокую чувствительность к осмотическому стрессу после появления всходов [17]. Из этих наблюдений, авторы сделали вывод, что существует обратно пропорциональная зависимость устойчивости растений к осмотическому стрессу от уровня экспрессии гена AtTOR. Мутация в гене TOR приводит к повышенной чувствительности клеток к осмотическому стрессу у *Schizosaccharomyces pombe* [19].

В настоящее время не вызывает сомнений, что в условиях действия того или иного стресса у растений могут происходить определенные изменения во взаимодействии внутриклеточ-

ных сигнальных систем, приводящие к формированию адекватного метаболического ответа клетки и всего организма в целом. Одним из распространенных по площади и неблагоприятному воздействию на продуктивность растений абиотических стрессоров является засоление почв. Нарушение солевого баланса приводит к снижению продуктивности сельскохозяйственных культур, а также (в условиях длительного повышения содержания солей в почве) к полной гибели растений [20].

Основным гормоном, задействованным в регуляции клеточного ответа на действие стрессовых факторов различного генеза в растениях, является абсцизовая кислота (АБК). На данный момент у растений описано несколько сигнальных путей, связанных с абсцизовой кислотой при ответе на стресс и патогены. Содержание АБК в значительной степени возрастает при засолении почв. АБК изменяет экспрессию генетических программ в клетках: подавляет синтез мРНК и соответствующих им белков, характерных для нормальных условий, и индуцирует работу генов и, следовательно, синтез специфических белков, называемых белками ответа на АБК [18]. В литературе имеются сведения, указывающие на процессы АБК-зависимого синтеза мультифункционального протектора – пролина, у растений арабидопсиса [11,18]. Аккумуляция пролина, считается одной из важных защитных реакций растений на действие засоления [21]. Помимо выполнения хорошо известной осмопротекторной функции, пролин может проявлять свойства шаперона, стабилизируя структуру белков при действии стрессоров, оказывать антиоксидантное действие, участвовать в регуляции экспрессии некоторых защитных генов [21].

Как известно, синтез пролина у высших растений происходит двумя путями – глутаматным и орнитиновым. Считается, что большая часть пула «стрессового» пролина синтезируется глутаматным метаболическим путем. Ключевым ферментом этого пути является  $\Delta^1$ -пирролин-5-карбоксилатсинтаза (П5КС), катализирующая двойную реакцию превращения глутамата в  $\Delta^1$ -пирролин-5-карбоксилат с участием АТФ и НАДФ+ [21]. В связи с чем, исследование зависимости уровня экспрессии генов, кодирующих основной фермент биосинтеза пролина – П5КС, в условиях стресса от активности комплекса TORC1 может дать существенный вклад в понимание механизмов адаптации растений к действию солевого стресса.

В литературе отсутствуют данные о взаимосвязи АБК и TOR-сигналинга в растительных клетках. Единственной информацией о подобной взаимосвязи служат результаты экспериментов Deprost и сотр. [18], согласно которым при обработке растений мутантных линий с гипо- и гиперэкспрессией гена TOR абсцизовой кислотой в концентрации 2 мкМ чувствительность к действию гормона наблюдалась только у растений с пониженным уровнем экспрессии TOR. Понимание механизмов, лежащих в основе этих процессов, является неоспоримым преимуществом в повышении адаптивных возможностей растений к стрессовым условиям окружающей среды, т.к. TOR сигнальная система является важнейшим регулятором клеточных функций не только в клетках животных, но и растений. В настоящее время в ряде зарубежных научных лабораторий проводятся исследования по изучению TOR сигнальной системы в процессах роста и развития растений. В частности, в отделе генетики Гарвардской медицинской школы в Бостоне (штат Массачусетс, США) проводятся исследования по изучению роли TOR сигнальных путей в биогенезе рибосом, росте и метаболизме растений, активации меристем [14]. Под руководством профессора В. Menand в лаборатории генетики и биофизики растений Университета Марсель (Франция) изучают дозозависимый эффект mTOR киназных ингибиторов на дифференциацию клеток меристемы *Arabidopsis thaliana* [10].

Основной модельной системой для изучения механизмов внутриклеточной сигнализации у растений в силу хорошей изученности его генома служит *Arabidopsis thaliana*. Несмотря на большое число исследований, проведенных на данном объекте до сих пор остаются не изученными такие вопросы как морфофизиологические особенности инсерционных мутантов по генам, кодирующим белки-партнеры TOR комплекса I у *Arabidopsis thaliana*; нет данных о влиянии TOR-киназных ингибиторов на биохимические и физиологические характеристики и фенотипические проявления инсерционных мутантов *Arabidopsis thaliana* по генам, кодирующим белки-партнеры TOR комплекса I; не изучено влияние солевого стресса на активность ферментов биосинтеза абсцизовой кислоты, фенотипические и физиологические параметры инсерционных мутантов *Arabidopsis thaliana* по генам, кодирующим белки-партнеры TOR-киназы. Не проводились исследования о влиянии

солевого стресса на экспрессию генов, контролирующих синтез и катаболизм низкомолекулярных осмопротекторов у инсерционных мутантов *Arabidopsisthaliana* по генам, кодирующим белки-партнеры TOR-киназы. Анализ тенденций развития сельскохозяйственного производства Казахстана показывает, что в перспективе оно будет развиваться в условиях более

жесткой ограниченности водных ресурсов, при усиливающейся деградации почвенного покрова, процессов засоления и антропогенного опустынивания. В связи с этим изучение и анализ указанных выше вопросов является актуальной проблемой современной клеточной биологии и физиологии растений и имеет большое практическое значение.

### Литература

- 1 Wullschleger S., Loewith R., Hall M. TOR signaling in growth and metabolism // Cell. – 2006. -Vol.124.- P.471–484.
- 2 Laplante M., Sabatini D.M. mTOR signaling in growth control and disease // Cell. -2012. -Vol.149. -P. 274-293.
- 3 Betz C., Hall M.N. Where is mTOR and what is it doing there? // J.Cell Biol.- 2013. -Vol.203.- N.4.- P.563-574.
- 4 Bjornsti M., Houghton P. The TOR pathway: A target for cancer therapy // Nature Reviews-Cancer. -2004.- Vol. 4. -P. 335–348.
- 5 Kang S.A., Pacold M.E., Cervantes C.L., Lim D., Low H.J., Ottina K., Gray N.S., Turk B.E., Yaffe M.B., Sabatini D.M. mTOR phosphorylation sites encode their sensitivity to starvation and rapamycin // Science. -2013. -Vol.341.- P. 1236-1246.
- 6 Templeton G., Moorhead G. The phosphoinositide-3-OH-kinase-related kinases of *Arabidopsis thaliana* // EMBO Rep. -2005. -Vol. 6.-N.8.- P.723-728.
- 7 Loewith R., Hall M.N. Target of Rapamycin in nutrient signaling and growth control // Genetics.-2011.- Vol.189. -P. 1177-1201.
- 8 Martin D., Hall M. The expanding TOR signaling network // Curr. Opin.Cell Biol. -2005. -Vol.17. -P. 158-166.
- 9 Anderson G. TOR signaling in plants // Plant Cell Monographs. -2008. -Vol.10. -P.243-259.
- 10 Moreau M., Sormani R., Menand B., Veit B., Robaglia C., Meyer C. The TOR complex and signaling pathways in plants // Enzymes. -2010. -Vol.27. -P.285-302.
- 11 Anderson G., Veit B. and Hanson M. The *Arabidopsis AtRaptor* genes are essential for post- embryonic plant growth // BMC Biology- 2005.- Vol.3. -P.144–153
- 12 Caldana C., Li I., Zhang Y., Bartholomaeus L., Fernie A.R., Willmitzer L., Giavalisco P. Systemic analysis of inducible target of rapamycin mutants reveal a general metabolic switch controlling growth in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. -2013.- Vol.73.- P.797-809.
- 13 Moreau M., Azzopardi M., Clement J., Dobrenel T., Marchive C., Renne C., Martin-Magniette M.L., Tacconat L., Renou J.P., Robaglia C., Meyer C. Mutations in the *Arabidopsis* homolog of LST8/GβL, a partner of the target of Rapamycin kinase, impair plant growth, flowering, and metabolic adaptation to long days // Plant Cell .-2012. -Vol.24. -P. 463-481.
- 14 Xiong Y., Sheen J. The Role of Target of Rapamycin Signaling Networks in Plant Growth and Metabolism // Plant Physiology. -2014. -Vol. 164. -P. 499–512.
- 15 Serfontein J., Nisbet R.E., Howe J.D., de Vries P.J Evolution of the TSC1/TSC2-TOR signaling pathway // Science Signaling. -2010. -Vol.3. -ra49.
- 16 Henriques R., Bugre L., Horvath B., Magyar Z. Balancing act: matching growth with environment by the TOR signaling pathway // Journal of Experimental Botany.-2014. -Vol.32. – P.1-11.
- 17 Mahfous M.M., Kim s., Delauney A.J., Verma D.P. *Arabidopsis* Target of rapamycin interacts with raptor, which regulates the activity of S6 kinase in response to osmotic stress signals // Plant Cell. -2006. -Vol.18. -P. 477-490.
- 18 Deprost D., Yao L., Sormani R., Moreau M., Leterreux G., Nicola M., Bedu M., Robaglia C. and Meyer C. The *Arabidopsis* TOR kinase links plant growth, yield, stress resistance and mRNA translation // EMBO Rep. -2007. -Vol. 8. -P.864–870.
- 19 Weisman R., Choder M. The fission yeast TOR homolog, *tor1+*, is required for the response to starvation and other stresses via a conserved serine // J.Biol.Chem. – 2001. -Vol. 276. -P.7027-7032.
- 20 Deinlein U., Stephan A.B., Horie T., Luo W., Xu G., Schroeder J.I. Plant salt-tolerance mechanisms // Trends in Plant Science. -2014. -TRPLSC-1145. -P. 1-9.
- 21 Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid // Trends Plant Sci. – 2009. -Vol. 15.- № 2. – P. 89-97.