
I.V. КОСАКІВСЬКА, I.V. ГОЛОВ'ЯНКО

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, МСП-1, Київ, 01601

АДАПТАЦІЯ РОСЛИН: БІОСИНТЕЗ ТА ФУНКЦІЇ СТРЕСОВИХ БІЛКІВ

Ключові слова: стрес, адаптація, адаптаційний синдром, стресові білки, білки теплового шоку, стійкість

I.V. KOSAKIVSKA, I.V. GOLOVYANKO

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

ADAPTATION OF PLANTS: BIOSYNTHESIS AND FUNCTIONS OF STRESS PROTEINS

The new data about role of stress proteins biosynthesis in plant adaptation summarised and analysed in article. Synthesis, localisation, possible functions and mechanism of action of stress proteins, which synthesised *de novo* in plant cells under stresses discussed.

Keywords: stress, adaptation, adaptation syndrom, stress proteins, heat shock proteins, resistance

И.В. КОСАКОВСКАЯ, И.В. ГОЛОВЯНКО

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, г. Киев

АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ: БИОСИНТЕЗ И ФУНКЦИИ СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ

Обобщены и проанализированы новые данные о роли стрессовых белков в процессе адаптации растений. Обсуждаются вопросы биосинтеза, локализации, возможных функций и механизма действия стрессовых белков, которые синтезируются в растительных клетках *de novo* в условиях стресса.

Ключевые слова: стресс, адаптация, адаптационный синдром, стрессовые белки, белки теплового шока, устойчивость

Адаптація рослин до різноманітних, зокрема стресових, умов навколишнього середовища, є однією з центральних проблем сучасної теоретичної і практичної біології. Аналіз структурних та метаболічних змін, що відбуваються в клітинах під час і в результаті пристосування, сприяє розумінню шляхів та характеру еволюційного процесу. Глобальні зміни клімату, посилення антропогенного навантаження на біосферу, яке супроводжується зниженням агроекологічної надійності рослинництва, надає особливого значення цьому питанню.

© I.V. КОСАКІВСЬКА, I.V. ГОЛОВ'ЯНКО, 2006

Стрес рослин, адаптаційний синдром

Загальновідомо, що концепція стресу була сформульована канадським вченим Г. Сел'є в 1936 році [91]. Він виявив, що за умов впливу на організми різноманітних подразників (бактеріальних інфекцій, фармакологічних та хімічних речовин, що спричинюють інтоксикацію, травм, високої та низької температур, підвищеної скелетно-м'язової активності, рентгенівського опромінення, нервово-емоційного потрясіння тощо) спостерігаються не лише специфічні, а й стандартна неспецифічна реакція [41]. Таку реакцію він оцінив як адаптивну відповідь цілісного організму, спрямовану на збереження стабільного стану, й назвав «загальним адаптаційним синдромом». Згідно з уявленнями Г. Сел'є, здатність до пристосування є найхарактернішою рисою живих організмів, а адаптація — це завжди результат особливої концентрації зусиль (або напруження). Звідси й походження назви «стрес», або «стресова реакція» («stress» в перекладі з англійської означає «напруження»). За визначенням Сел'є, стрес — це сукупність усіх неспецифічних змін, що відбуваються в організмі за умов впливу на нього окремих чинників [42].

Сукупність *специфічних* та *неспецифічних* реакцій складає *адаптаційний синдром* організму. До неспецифічних належать реакції, які виникають у відповідь на різноманітні подразнення та мають спільні ознаки. Компонентами *неспецифічної відповіді* на стрес є, зокрема, зміни у білок-синтезуючій системі, фітогормональному балансі, активності ферментів тощо [22]. *Специфічні реакції* притаманні окремим організмам у відповідь на конкретні стреси.

Дія стресового фактора на рослинний організм має подвійний ефект: пошкоджуючий та подразнюючий [48]. Пошкодження виявляється у порушенні цілісності мембранних структур, зміні їх властивостей, роз'єднанні процесів дихання й фосфорилування тощо, тоді як стресор-подразник викликає формування цілої ланки захисних реакцій, спрямованих на репарацію пошкодження [11, 29].

Згідно з уніфікованою концепцією стресу, яка включає оригінальну концепцію Г. Сел'є та доповнення до неї, у реакції рослин на стрес виділяють такі фази:

— *відповіді* — реакція тривоги, яка характеризується відхиленнями від функціональної норми, зниженням життєздатності, активацією катаболічних процесів порівняно з анаболічними;

— *відновлення* — стадія опору (безперервний стрес), для якої є типовими процеси адаптації та репарації, розвиток стійкості (реактивація);

— *кінцеву* — стадія виснаження (тривалий стрес), за якої має місце перевищення адаптаційного порогу, хронічне захворювання або загибель;

— *регенерації* — частково або повністю відновлюється фізіологічна функція після припинення дії стресу [18].

Під час першої фази у більшості рослин активуються механізми опору, а саме: аклімація метаболічних потоків, активація репараційних про-

цесів, тривалі метаболічні та морфологічні адаптаційні зміни. Тобто синдром тривоги забезпечує загартування рослин, формування нового фізіологічного стандарту, який є оптимальним за умов стресового впливу та відповідає максимуму резистентності рослин. Період часу, впродовж якого рослина зберігає новий фізіологічний стан, залежить від зовнішніх та внутрішніх факторів [18, 22]

У 1983 році П.О. Генкель запровадив термін «фітострес», під яким розумів реакцію саме рослинного організму на несприятливі умови існування [12]. Фітострес починається з *фази реакції*, під час якої відбувається гідролітичний розпад речовин. Якщо сила стресу не досягає порогових значень, мають місце зворотні процеси та формування стійкості до стресу — *фаза адаптації*. Відновлення початкових функцій організму після припинення дії негативного фактора отримало назву *фази відновлення*. В разі посилення сили стресу до летальних значень настає *фаза пошкодження та загибелі* [10]. Гомеостаз забезпечується складними, до кінця ще не вивченими механізмами адаптації, спрямованими на послаблення або усунення пошкоджуючого впливу на рослину [11]. Існує також поняття «фенотипового стресу», коли сила збуджуючого фактора перевищує поріг чутливості або стійкості рослини. Як результат формуються перехідні пристосувальні процеси, що складаються з фаз інгібування, відновлення, надвідновлення та (або) загибелі [24].

Вважається, що метаболічні зміни переважно індукуються продуктами окиснювального стресу. Збільшення кількості супероксидних радикалів та пероксиду водню хімічно характеризується як перехід від гетеролітичного (приєднання двох електронів) до гомолітичного (одного електрону) процесу [21]. Гомолітичні реакції генерують реактивні форми кисню, частина котрих є вільними радикалами. Вони нейтралізуються завдяки паралельному збільшенню антиоксидантної активності відповідних сполук або процесів.

До перших неспецифічних відповідей клітин рослин на стрес, характерних для катаболічної фази тривоги (її ще називають «фазою гальмування» [46], «реакцією захисного гальмування метаболізму» [30], «первинною стресовою реакцією» [37], «фазою фізіологічної депресії» [35] тощо) відноситься цілий комплекс однотипових реакцій, які можна вважати загальнобіологічними, а саме:

- зниження тотальної активності синтетичних процесів;
- деградація білоксинтезуючого апарату;
- катаболізм біополімерів;
- синтез ферментів;
- утворення необхідних для термінового захисту клітин сполук [6, 22, 25, 30, 35, 36, 43, 60, 66].

Виявити послідовність порушень, що провокуються стресором на початку його дії, досить складно, оскільки швидкість їх перебігу може бути такою великою, що всі зміни реєструються майже одночасно [46].

На першому етапі дії стресу мають місце зміни метаболічних процесів клітини. При цьому спостерігаються порушення структурної цілісності та

проникності мембран [31, 37, 44, 60, 92], зміни властивостей та стану цитоплазми, величини рН [1–3], структурного стану та активності ядерної ДНК [5, 6, 46, 60], а також процесів, пов'язаних з біоенергізацією клітин [6, 37, 48, 60].

Наступним етапом є індукція синтезу стресових та окремих білків, що утворюються в нормі, на фоні пригнічення тотального синтезу білка [5–9, 20–23, 77–79], збільшення концентрацій стресових фітогормонів: абсцизової кислоти (АБК), якій відводять ключову роль в індукції синтезу стресових білків, та етилену — «гормону тривоги» [26, 39, 59, 81, 82, 92], а також інших ендогенних регуляторів росту, зокрема саліцилату та жасмонату, що беруть участь в індукції стрес-реакції [64, 85]. Поряд з цим, має місце зниження рівня індолілоцтової кислоти (ІОК), цитокінінів та гіберелінів [15, 17, 30, 38, 71] і, як результат, — гальмування ростових процесів [17, 22, 51] та наступні зміни окремих інтегральних показників організму, зокрема поглинання та утилізації елементів мінерального живлення, приросту біомаси, врожаю зерна тощо [32, 37, 40].

Таким чином, на першому етапі дії стресора в клітинах рослин знижується інтенсивність метаболізму та ініціюються процеси, не характерні для нормальних умов існування. Це явище є тимчасовим, оскільки інтенсивність і тривалість катаболічних процесів за умов стресу не повинні виходити за межі незворотних змін (що неминуче веде до загибелі). Ймовірно, у клітинах утворюються і накопичуються стрес-лімітуючі фактори [36]. Перший етап стресової реакції можна розглядати як негайну, але недосконалу адаптацію, тоді як на другому етапі формуються тривалі механізми адаптації [22, 36].

Типи адаптації

Адаптація відбувається на молекулярному, клітинному, органельному, органному, організмовому та популяційному рівнях. Беручи до уваги, що рослинні організми повсякчас пристосовуються до умов навколишнього середовища, можна стверджувати, що адаптивні зміни відбуваються впродовж усього еволюційного процесу.

Залежно від тривалості адаптивного процесу можна виділити кілька типів адаптації до зовнішніх умов. Це:

Еволюційна адаптація — найбільш тривалий процес пристосування до умов навколишнього середовища. Базується на утворенні нової генетичної інформації, яка, своєю чергою, визначає нові адаптивні фенотипові ознаки. Реалізується упродовж існування багатьох генерацій.

Аклімація та акліматизація — процеси пристосування відбуваються упродовж життєвого циклу організму і тривають від кількох годин до кількох місяців. Яскравим прикладом є різноманітні сезонні зміни, які мають місце у тварин і рослин. Адаптаційні зміни, що спостерігаються в лабораторних умовах у відповідь на експериментальне зменшення або ж збільшення окремих параметрів навколишнього середовища, мають назву аклімації, а ті, що відбуваються у природних умовах, — акліматизації.

Миттєва адаптація — це пристосувальні процеси у відповідь на зміни навколишнього середовища, які відбуваються практично одразу після дії подразника. На біохімічному рівні миттєва адаптація є проявом особливостей метаболізму.

Формування зворотних змін, спрямованих на відновлення до контрольованого рівня функціональних спроможностей організму, має назву *компенсаторної адаптації*.

Окрім адаптаційні зміни створюють принципово нові можливості для використання організмом власного природного середовища або ж навіть для експансії в нове. Адаптація такого типу називається *експлуативною*. На відміну від компенсаторної, яка супроводжується відновленням пристосувальних процесів, експлуативна адаптація не є необхідною. Організм нормально функціонує без нових можливостей, але завдяки ним значно краще пристосовується до умов існування, зокрема, раніше недоступних.

Біосинтез білків — компонента адаптаційного синдрому

Однією з центральних ланок метаболізму є біосинтез білка. Про його інтенсивність свідчить не лише характер включення мічених амінокислот, а й активність білоксинтезуючої системи в цілому, яка, зокрема, характеризується співвідношенням задіяних в синтезі полісом до неактивних моносом. Різноманітні стреси призводять до припинення або пригнічення синтезу білків, які мають місце в нормі, та синтезу специфічних стресових білків, характерних для відповіді на дію посухи [13, 54, 69], температурних стресів [2, 7–9, 21–23, 34, 68, 77–79], засолення [4], зниження рН середовища [96], ультрафіолетового опромінення [56], гіпоксії [69], за грибного патогенезу [53] тощо.

Активність білоксинтезуючої системи контролюється усіма класами фітогормонів, антагоністом у регуляції активації синтезу білка ауксинами, цитокінінами та гіберелінами часто виступає АБК [19, 26, 69]. Дійсно, стресові фактори різної природи спричинюють накопичення АБК, яке переважно обумовлене процесом новоутворення фітогормону, оскільки інгібітори синтезу РНК і білка — кордицепін та циклогексимід — різко знижують стрес-індуковане підвищення рівня фітогормону [101].

Разом з тим внаслідок стресових впливів у рослинних клітинах значно та швидко зменшується вміст ауксинів, цитокінінів та гіберелінів, нестача яких призводить до гальмування метаболічних процесів [17, 38, 71]. Щоправда, зниження рівня окремих фітогормонів — активаторів росту, як і накопичення АБК, за умов впливу стресу має місце не завжди [17, 86]. Зміни в балансі фітогормонів у відповідь на стрес відбуваються швидко й носять зворотний характер [22, 101]. Все це дозволяє розглядати фітогормони як ключові компоненти, котрі регулюють захисне гальмування метаболізму за умов стресу [15, 22, 30, 50].

За гіпотезою Є.І. Мелехова, гальмування метаболізму в клітинах рослин на початку дії стресора має яскраво виражений неспецифічний характер [30]. Це явище можна назвати захисним, оскільки воно гальмує

процеси, які пошкоджують цілісність клітин. Зниження інтенсивності метаболічних процесів за умов стресу носить захисно-приспосувальний характер та перешкоджає розвитку рослини, у такий спосіб зберігаючи життєвий потенціал клітин, необхідний для наступної репарації.

Посилення пошкоджуючої дії стрес-фактора та зниження стійкості має місце в разі обробки рослин ауксинами, цитокинінами та гіберелінами і, навпаки, збільшення опору спостерігається під впливом АБК [31, 71]. Обробка рослин фітогормонами-активаторами метаболізму на фоні фізіологічних доз стрес-фактору, навпаки, збільшує їх стійкість [31, 49, 52, 84].

Гальмування метаболізму клітин у відповідь на дію стресора не є пасивним. Продукти катаболізму біополімерів — олігосахариди, амінокислоти пролін, аргінін, аспарагінова та глютамінова кислоти, а також поліаміни, моно- та дисахариди, янтарна та інші кислоти, оксигеновані жирні кислоти, низькомолекулярні пептиди (зокрема, системін) та багато інших сполук — відіграють важливу роль у захисті рослин [16, 33, 35–36, 43–45, 60, 66, 70, 88].

У процесі адаптації має місце поступова активація метаболічних процесів: активація хроматину, транскрипції і трансляції, зниження активності багатьох гідролітичних та стабілізація активності інших ферментів, відновлення інтенсивності процесів фотосинтезу та дихання, ростових процесів. Організм починає функціонувати в новому режимі, котрий сприяє формуванню приспосувальних реакцій, серед яких важливу роль відіграють специфічні [22, 36].

Стійкість рослин до стресових факторів залежить від фази онтогенезу. Якщо у стані спокою рослини найбільш стійкі, то в періоди пророщування або формування — найбільш уразливі [47].

Стресові білки

Вперше про реакцію генетичного апарату на зміну умов навколишнього середовища стало відомо завдяки дослідженням італійського генетика F. Ritossa на початку 60-х років XX століття [87]. Він визначив, що 30-хвилинне прогрівання личинок дрозофіли за температури 37 °С супроводжувалося появою на гігантських хромосомах клітин слинних залоз семи здуттів, які не спостерігалися при температурі 25 °С. Результати F. Ritossa в подальшому підтвердилися роботами багатьох дослідників, але знадобилося 12 років для того, щоб Tissiers зі співробітниками [95] з'ясували, що кількості утворених за умов підвищеної температури здуттів на хромосомах дрозофіли відповідає кількість поліпептидів, які синтезуються в цей час. Вказані білки отримали назву білків теплового шоку (БТШ).

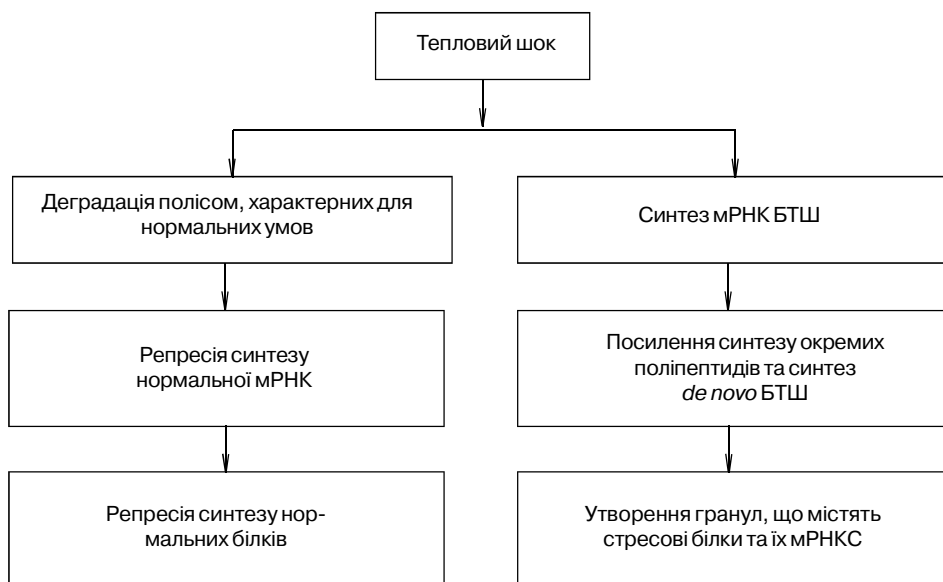
Утворення БТШ було пізніше виявлено в усіх організмах прокариотичної та еукаріотичної природи [90]. Крім того, встановлено, що специфічні поліпептиди, не характерні для організму у звичних для нього умовах, утворюються у відповідь на зміну таких факторів як вологість, температура, вміст кисню, іонів важких металів, хлориду натрію тощо. Вперше утворення таких білків за умов теплового шоку виявили у сої

Barnet зі співробітниками [58] та Key зі співробітниками [73]. Вони отримали назву стресових, а потенційна можливість їх біосинтезу за несприятливих умов визнана загальнобіологічним явищем [5].

Найбільш детально біосинтез білків досліджено за умов теплового шоку (ТШ). Припускають, що біосинтез стресових білків рослин є більш складним процесом в порівнянні з тваринами, підтвердженням чого є різноманітність БТШ рослин [8, 22, 28, 97].

Встановлено, що синтез БТШ починається вже через 15 хвилин після впливу ТШ, триває впродовж 6—8 годин від початку дії несприятливого фактора й переважно відбувається у дві фази: спочатку утворюється група так званих ранніх білків, потім — пізніх [6, 20]. БТШ синтезуються в доволі малій кількості: за невеликим винятком їх частка становить до 2 % від вмісту білків, що утворюються за нормальних умов [6, 22].

Перехід клітин у стресовий режим життєдіяльності — надзвичайне явище, яке регулюється одночасно на багатьох рівнях. Воно включає в себе репрограмування геному: гальмується активність генів, характерних для нормальних умов, й активуються гени ТШ. В результаті через 5 хвилин після початку стресу у клітинах виявлено мРНК, що кодують синтез БТШ [22, 27, 28]. ТШ призводить не лише до репрограмування геному з наступною зміною складу мРНК, але й репрограмування рибосом — розпаду полісом, що синтезують білки, характерні для нормальних умов, й утворення полісом, які синтезують БТШ. Стрімке включення процесу синтезу БТШ на транскрипційному та трансляційному рівнях досягається в результаті низки подій. ТШ спричинює зміни у складі мРНК, відбувається модифікація білкових факторів трансляції та власне рибосом-



них білків. Все це зумовлює послаблення, а потім й припинення синтезу нормальних білків та синтез БТШ [5—7, 9, 22—23, 72, 97—100].

Реакція рослин на тепловий шок подібна до такої, що спостерігається у ссавців, комах, дріжджів, та характеризується кількома ключовими моментами:

— підвищення температури на 8—10° С викликає затухання синтезу нормальних білків та інтенсивне утворення БТШ;

Таблиця 1. Локалізація головних родин БТШ

Родина БТШ	Компартмент
<p>БТШ 70 Hsp 70 — стрес-індукований Hsp 70k — конститутивний ГРБ 78 (mtp 70) p 75 Мітохондрії Hsp 70 +NLS Hsp 70k</p>	<p>Цитоплазма Цитоплазма Ендоплазматичний ретикулум</p> <p>Ядро</p>
<p>БТШ 90 Синтез 90 кД поліпептидів 86 кД Локалізація 90 кД поліпептидів</p>	<p>Цитоплазма Мітохондрії Мітохондрії Пластиди Ендоплазматичний ретикулум</p>
<p>БТШ 110</p>	<p>Цитоплазма Пластиди Мітохондрії</p>
<p>БТШ 60 Hsp 60 — стрес-залежний Сrp 60 — стрес-залежний Низькомолекулярні БТШ</p>	<p>Мітохондрії Хлоропласти Цитоплазма Хлоропласти Мітохондрії Ендоплазматичний ретикулум</p>

— синтез БТШ запускається транскрипцією генів БТШ, окремі з яких секвіновано;

— внаслідок відновлення нормального температурного режиму припиняється синтез БТШ та відновлюється біосинтез нормальних білків на фоні стрімкого розпаду мРНК БТШ (півперіод — до 2-х годин).

Схема послідовних відповідей рослин на дію теплового шоку

За сучасною класифікацією, заснованою на відмінностях у величині молекулярної маси, розділяють п'ять основних класів (родин) БТШ: БТШ 100 (Мм 104-110 кДа), БТШ 90 (Мм 80-95 кДа), БТШ 70 (Мм 63-78 кДа), БТШ 60 (Мм 53-62 кДа), низькомолекулярні БТШ (нмБТШ, Мм 15-40 кДа) та убіквітин (Мм 8,5 кДа) [22, 26, 80, 82, 89]. Представники головних родин БТШ виявлені в різних компартментах рослинної клітини (табл. 1). Синтез БТШ може відбуватися в ядрі, після чого вони мігрують до пластид, мітохондрій, цитоплазми, ендоплазматичного ретикулуму.

Функції стресових білків

Білки родини БТШ 70 (як і їх бактеріальний аналог Dna K) взаємодіють з поліпептидним ланцюгом, який знов синтезується на рибосомах, приєднуються до інших білків, сприяючи їх розгортанню, і, таким чином, перешкоджають передчасному згортанню незрілого поліпептидного ланцюга, яке заважало б білку набути конформацію, необхідну для функціональної активності. Розгортання білків необхідне для проникнення крізь мембрану хлоропластів, мітохондрій та ендоплазматичного ретикулула. БТШ 70 захищають білки від незворотного пошкодження. Характер їх взаємодії з іншими білками АТФ/АДФ залежний. У комплексі з АДФ утримують на собі розплетений білок, заміна ж АДФ на АТФ призводить до вивільнення цього білка. Заміна зв'язаної з БТШ 70 АТФ на АДФ відбувається за рахунок АТФ-азної активності. Повний АТФ-залежний цикл трансформування білків крізь мембрану забезпечується завдяки конформаційній зміні молекул БТШ 70 залежно від АТФ- або АДФ-зв'язку [27, 93]. БТШ 70 присутній в усіх компартментах клітини. Ідентифікація БТШ 70 за умов усіх видів стресів свідчить про те, що це неспецифічний стресовий білок, синтез якого є складовою загального адаптаційного синдрому [22].

Білки родини БТШ 60 забезпечують правильну укладку четвертинної структури складних багатодомених білків (зокрема, актину чи тубуліну). Утворюють комплекс з двох накладених одне на інше кілець, кожне з яких містить сім субодиниць. Така складна структура забезпечує правильну упаковку клітинних білків під час формування четвертинної структури. Беруть участь в АТФ-залежному процесі виправлення помилок у структурі частково денатурованих білків [27, 28, 34].

Білки родини БТШ 90 утворюють складний комплекс з допоміжними білками (ко-шаперонами), який взаємодіє з рецепторами стероїдних гормонів та забезпечує ефективне зв'язування і наступний транспорт гормон-рецепторного комплексу до ядра. Беруть участь у переносі окремих протеїназ до місць функціонування, контролюючи їх активність [27, 28, 34, 97].

Таким чином, білки родин БТШ 60, 70 та 90 здатні утворювати комплекси з іншими білками, змінюючи при цьому їх структуру та функціональний стан. Під час теплового шоку вони захищають клітинні білки від пошкоджень, хоча остаточно механізм їх дії залишається нез'ясованим.

Білки родини БТШ 100 виконують захисну функцію, попереджаючи агрегацію білків у цитозолі та мітохондріях, а також взаємодіють з протеазами [23].

До БТШ відноситься також убіквітин — білок, приєднання якого до N-кінця поліпептиду перетворює його в мішень для протеаз. Це так звана «мітка смерті» для білків, завдяки якій відбувається вибраковка пошкоджених, недобудованих та функціонально неактивних поліпептидів [28, 80, 83]. Асоційований убіквітином білок руйнується в особливих мультикомпонентних комплексах — протеосомах. ТШ призводить до появи недобудованих та пошкоджених білків, видалення яких забезпечує убіквітин. Поява пошкоджених та недобудованих білків є сигналом до синтезу БТШ за умов нор-

мальної температури. Фактори, які стабілізують структуру білків, гальмують синтез БТШ [27].

Низькомолекулярні (нмБТШ) білки

Біосинтез нмБТШ відбувається у відповідь на негативні впливи. Збільшення терморезистентності обумовлюється стабілізацією цитоскелетних елементів, зокрема актину [75, 76]. НмБТШ взаємодіють з актиновим цитоскелетом, захищаючи та відновлюючи клітинну структуру [57]. Ідентифікація молекул РНК у складі гранул ТШ дозволяє стверджувати, що нмБТШ захищають мРНК [83]. Експерименти, проведені *in vitro*, продемонстрували, що окремі нмБТШ за участю молекул АТФ виконують функції молекулярних шаперонів [21—23, 34, 63, 73, 77—79, 99, 100]. Молекулярні шаперони зв'язують частково денатуровані білки, перешкоджаючи їх неправильній агрегації або допомагають їх правильному згортанню [14, 22, 98—100].

НмБТШ взаємодіють з денатурованими субстратами, що добре вивчено *in vitro*, проте клітинні субстрати нмБТШ залишаються вивченими недостатньо. Для того, щоб зрозуміти механізм шаперонної дії нмБТШ та визначити, яким чином ці білки захищають клітини впродовж стресу, необхідно ідентифікувати поліпептиди, що взаємодіють з нмБТШ *in vivo* як партнери або ж субстрати. Встановлено, що нмБТШ можуть взаємодіяти з широким спектром субстратів, — це підтверджується спостереженнями на рослинах, дріжджах та ссавцях [67].

Базуючись на відомостях про кристалічну структуру нмБТШ *Methanococcus jannaschii*, запропоновано механізм захисної дії нмБТШ [74, 83]. Згідно з ним, окремі білки або РНК, важливі для виживання клітин за умов стресу, утримуються на внутрішній або зовнішній поверхні порожніх сфер під час збірки *in vivo*, що дозволяє молекулам малого розміру, таким як субстрати ферментів, та навіть видовженим пептидним ланцюгам, розміщатися всередині і на поверхні сфері.

Таблиця 2. Головні родини БТШ та їх можливі функції

Родина	Функції
Шаперони	Супроводження та укладка білків
БТШ 70	Супроводження білків Медіатори білкової транслокації крізь мембрани ітохондрій, хлоропластів та ендоплазматичного ретикулула Компоненти стероїдного гормонального рецепторного комплексу
БТШ 90	Супроводження білків Компоненти стероїдного гормонального рецепторного комплексу Компоненти рецептору діоксину
БТШ 100	Попередження агрегації білків в цитозолі та мітохондріях Взаємодія з протеазами
Низькомолекулярні БТШ	Попередження агрегації білків Участь в супроводженні білків

Відомості про те, що синтез нмБТШ відбувається під час розвитку насіння, здатного протистояти повній втраті клітинної води, свідчить про захисну функцію впродовж зневоднення та/або регідратації [55, 61, 62, 65]. Синтез мРНК нмБТШ та/або продуктів їх трансляції відбувається у відповідь на низькотемпературний стрес [20—23, 84]. НмБТШ сприяють розвитку стійкості до охолодження, що обумовлює їх можливу роль у захисті від холодового пошкодження [87].

Високомолекулярні БТШ є в клітинах постійно, але в стресових умовах їх кількість збільшується. На відміну від них, синтез нмБТШ індукується лише підвищеною температурою [97]. Характер дії БТШ свідчить про те, що більшість їх є молекулярними шаперонами [21—23, 34, 63, 74, 77—79, 98—100]. Термін «молекулярні шаперони» запропонували Las-Key зі співавторами [14], щоб підкреслити спеціальну функцію у прискоренні процесу збірки хроматину ядерного білка — нуклеоплазміну. Нуклеоплазмін бере участь у збірці білка, але сам не є його складовою частиною. Молекулярні шаперони можна визначити як клас білків, що асистують процесу правильної нековалентної укладки поліпептидів або поліпептидвмісних структур за умов *in vivo*, але не є компонентами структур, що утворюються [98—100].

Визначення функції шаперонів не пов'язане з особливістю їх структури. Шаперони можуть прискорювати або сповільнювати процеси, інгібувати некоректні реакції самоупаковування. Під правильним упакуванням розуміється формування білків зі специфічною активністю [14] (табл. 2).

Таким чином, стресові білки є важливим компонентом захисної реакції живих організмів на несприятливі дії. Уніфікованим явищем вважається затухання синтезу звичайних та утворення специфічних поліпептидів, які виконують захисну функцію. Особливістю рослинної клітини є синтез групи низькомолекулярних стресових білків. Відповідь на ТШ та інші стреси, вірогідно, є законсервованою реакцією клітин та організмів у цілому. Сублетальні стресові навантаження індують реакцію клітин у таких напрямках: 1) захист від пошкодження; 2) відновлення нормальної клітинної та фізіологічної активності; 3) розвиток стійкості.

Визначальним для існування клітин є чутливість білків та ферментів до інактивації та денатурації, їх захист від протеїнотоксичних ефектів. Оскільки для рослин притаманний відносно «нерухливий» спосіб життя, адаптаційні захисні реакції у них локалізовані всередині клітин і безпосередньо торкаються функціонування білоксинтезуючої системи. Тому активне дослідження функцій стресових білків вбачається перспективним при вивченні молекулярних механізмів адаптаційних процесів.

1. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. — Л.: Наука, 1985. — 317 с.
2. Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура. — Л.: Наука, 1975. — 329 с.
3. Александров В.Я., Кислюк И.М. Реакция растений на тепловой шок: физиологический аспект // Цитология. — 1994. — **36**, № 1. — С. 5—59.
4. Белянская С.Л., Исханов С.К., Шамина З.Б. Влияние стрессовых факторов на культуру клеток и проростки риса // Физиол. раст. — 1991. — **38**, № 6. — С. 1218—1226.

5. Блехман Г.И. Синтез белка в условиях стресса // Успехи совр. биол. — 1988. — **103**, № 3. — С. 340—353.
6. Блехман Г.И., Шеламова Н.А. Синтез и распад макромолекул в условиях стресса // Там же. — 1992. — **112**, № 2. — С. 281—297.
7. Войников В.К. Температурный стресс и митохондрии растений. — Новосибирск: Наука, Сиб. отд., 1987. — 133 с.
8. Войников В.К., Боровский Г.Б. Роль стрессовых белков в клетках при гипертермии // Успехи совр. биол. — 1984. — **114**, № 1. — С. 85—95.
9. Войников В.К., Иванова Г.Г., Гудиковский А.В. Белки теплового шока растений (обзор) // Физиол. раст. — 1984. — **31**, № 5. — С. 970—979.
10. Генкель П.А. Адаптация растений к экстремальным условиям окружающей среды // Физиол. раст. — 1978. — **25**, № 5. — С. 889—902.
11. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. — М.: Наука, 1982. — 279 с.
12. Генкель П.А. Пути и перспективы развития физиологии жаро- и засухоустойчивости культурных растений // С.-х. биология. — 1983. — **1**. — 279 с.
13. Генкель П.А., Сатарова Н.А., Творус Е.К. Функциональная активность рибосом из адаптированных к засухе растений // Физиол. раст. — 1972. — **19**, № 7. — С. 1041—1046.
14. Евстигнеева З.Г., Соловьева Н.А., Сидельникова Л.И. Структура и функции шаперонов и шаперонинов // Прикладная биохим. и микробиол. — 2001. — **37**, № 1. — С. 5—18.
15. Жирмунская Н.М., Шаповалов А.А. Физиологические аспекты применения регуляторов роста для повышения засухоустойчивости растений // Агрехимия. — 1987. — **6**, № 1. — С. 102—119.
16. Жолкевич В.Н., Зубкова Н.К., Маевская С.Н. и др. Взаимодействие теплового шока и водного стресса у растений. 2. Осморегуляция в листьях хлопчатника при последовательном действии кратковременной гипертермии и почвенной засухи // Физиол. раст. — 1997. — **44**, № 4. — С. 613—623.
17. Жолкевич В.Н., Пустовойтова Т.Н. Рост листьев *Cucumis sativus* L. и содержание в них фитогормонов при почвенной засухе // Физиол. раст. — 1993. — **40**, № 4. — С. 676—680.
18. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / Ред. Е.Л. Кордюм. — К.: Наук. думка, 2003. — 277 с.
19. Клячко Н.Л. Посттранскрипционная регуляция синтеза белка фитогормонами: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 1985. — 47 с.
20. Колесниченко А.В., Побежимова П.Т., Войников В.К. Характеристика низкотемпературного стресса у растений // Физиол. раст. — 2000. — **47**, № 5. — С. 624—630.
21. Колупаев Ю.Е. Стресові реакції рослин. Молекулярно-клітинний рівень. — Харків: Держ. ун-т ім. В.В. Докучаєва, 2001. — 172 с.
22. Косаківська І.В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. — К.: Сталь, 2003. — 191 с.
23. Косаківська І.В., Гудкова Н.В. Нові уявлення про структуру та функції стресових білків рослин // Укр. ботан. журн. — 2002. — **59**, № 1. — С. 72—74.
24. Костюк А.Н., Михеев А.Н. Проблема фенотипического стресса и адаптация у растений // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1997. — **29**, № 2. — С. 81—91.
25. Кузнецов В.В., Старостенко В.В. Синтез белков теплового шока и их вклад в выживание интактных растений огурца при гипертермии // Физиол. раст. — 1994. — **41**, № 1. — С. 374—380.
26. Кулаева О.Н. Физиологическая роль абсциссовой кислоты // Там же. — 1994. — **41**, № 3. — С. 645—646.
27. Кулаева О.Н. БТШ и устойчивость растений к стрессу // Соровский образоват. журн. — 1997. — № 2. — С. 5—13.
28. Кулаева О.Н., Микулович Т.П., Хохлова В.А. Стрессовые белки растений // Совр. пробл. биохим. — М.: Наука, 1991. — С. 174—190.
29. Лапина Л.П., Строгонов Б.П. Локализация солей в клетках в связи с приспособлением растений к условиям засоления // Успехи совр. биол. — 1979. — **88**, № 1. — С. 93—107.
30. Мелехов Е.И. Принцип регуляции скорости повреждения клетки и реакция защитного торможения метаболизма // Журн. общей биол. — 1985. — **46**, № 2. — С. 174—189.
31. Мелехов Е.И., Ефремова Л.К. Влияние экзогенных фитогормонов на устойчивость растительных клеток к нагреву и 2,4-Д // Физиол. раст. — 1990. — **37**, № 3. — С. 561—567.
32. Миркин Б.М., Усманов И.Ю., Наумова Л.Г. Типы стратегий растений: место в системах видовых классификаций и тенденции развития // Журн. общей биол. — 1999. — **LX**. — С. 581—595.

33. Озерецковская О.Л., Роменская И.Г. Олигосахарины как регуляторные молекулы растений (обзор) // Физиол. раст. — 1996. — **43**, № 5. — С. 743—752.
34. Панасенко О.О., Ким М.В., Гусев Н.Б. Структура и свойства малых белков теплового шока // Успехи биол. химии. — 2003. — **43**, № 1. — С. 59—98.
35. Пахомова В.М. Основные положения современной теории стресса и неспецифический адаптационный синдром у растений // Цитология. — 1995. — **37**, № 1/2. — С. 66—91.
36. Пахомова В.М., Чернов И.А. Некоторые особенности индуктивной фазы неспецифического адаптационного синдрома растений // Известия РАН. Сер. Биол. — 1996. — **6**. — С. 705—715.
37. Полевой В.В. Физиология растений. — М.: Высш. шк., 1989. — 464 с.
38. Пустовойтова Т.Н. Стрессовые воздействия и изменения уровня регуляторов роста растений // Рост растений и дифференцировка. — М.: Наука, 1981. — С. 225.
39. Ракитина Т.Я., Власов П.В., Жалилова Ф.Х., Кефели В.И. Абсцизовая кислота и этилен в мутантах *Arabidopsis thaliana*, различающихся по устойчивости к ультрафиолетовой (УФ-Б) радиации // Физиол. раст. — 1994. — **41**, № 4. — С. 682—686.
40. Рахманкулова З.Ф., Усманов И.Ю. Морфофизиологические параметры проростков пшеницы устойчивых и высокопродуктивных сортов в норме и при стрессе // Физиол. раст. — 2000. — **47**, № 4. — С. 608—613.
41. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. — М.: Медгиз., 1960. — 254 с.
42. Селье Г. На уровне целого организма. — М.: Наука, 1972. — 122 с.
43. Тарчевский И.А. Катаболизм и стресс у растений // 52-е Тимирязевские чтения. — М.: Наука, 1993. — 80 с.
44. Тарчевский И.А. Элиситор-индуцируемые сигнальные системы и их взаимодействие // Физиол. раст. — 2000. — **47**, № 1. — С. 321—331.
45. Тарчевский И.А., Максютова Н.Н., Яеовлева В.Г., Гречкин А.Н. Янтарная кислота — миметик салициловой кислоты // Там же. — 1999. — **46**, № 1. — С. 23—25.
46. Удовенко Г.В. Механизмы адаптации растений к стрессам // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1979. — **11**, № 2. — С. 99—107.
47. Удовенко Г.В., Драгавцев В.А., Волкова А.М. и др. Реакция разных генотипов яровой пшеницы на засуху при различных температурных режимах вегетации // С.-х. биология. — 1998. — **3**, № 1. — С. 60—68.
48. Урманцев Ю.А., Гудсков Н.Л. Проблема специфичности и неспецифичности ответных реакций растений на повреждающие воздействия // Журн. общей биол. — 1986. — **XLVII**. — С. 337—349.
49. Чернядьев И.И. Фотосинтез растений в условиях водного стресса и протекторное влияние цитокининов (обзор) // Прикл. биохим. и микробиол. — 1997. — **33**, № 1. — С. 5—17.
50. Шакирова Ф.М. Участие фитогормонов и лектина пшеницы в ответе растений на стрессовые воздействия: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — С.-Пб. ГУ, 1999. — 44 с.
51. Шакирова Ф.М., Безрукова М.В., Хайруллин Р.М. Стимуляция увеличения уровня лектина в проростках пшеницы под влиянием солевого стресса // Известия РАН. Сер. Биол. — 1993. — **1**. — С. 143—145.
52. Шакирова Ф.М., Кондрак К., Клячко Н.Л., Кулаева О.Н. Связь между действием цитокинина на рост изолированных семядолей тыквы и синтезом в них РНК и белка // Физиол. раст. — 1982. — **29**, № 1. — С. 52—61.
53. Шакирова Ф.М., Кудоярова Г.Р., Ямалеев А.М., Еркеев М.И. Влияние картолина на белоксинтезирующий аппарат растений пшеницы в связи с устойчивостью к мучнистой росе // Физиол. раст. — 1985. — **32**, № 2. — С. 396—400.
54. Шевелуха В.С., Кулаева О.Н., Шакирова Ф.М. и др. Влияние картолина на белоксинтезирующий аппарат листьев ячменя в условиях засухи // Докл. АН СССР. — 1983. — **271**. — С. 1022—1024.
55. Almoguera C., Coca M.A., Jordano J. Tissue-specific expression of sunflower heat shock proteins in response to water stress // Plant J. — 1993. — **4**. — P. 947—958.
56. Araoz R., Lebert M., Hader D. -P. Translation activity under ultraviolet radiation and temperature stress in cyanobacterium *Nastoc* sp. // Photochem. Photobiol. — 1998. — **47**, N 1. — P. 115—120.
57. Arrigo A. -P., Landry J. Expression and function of the lowmolecular weight heat shock proteins // Morimoto R., Tissieres A., Georgopolous C. (eds). The biology of heat shock proteins and molecular chaperones. — New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1994. — P. 335—373.

58. Barnett Th., Altschuler M., McDaniel C.N., Mascarenhas J.P. Heat shock induced proteins in plant cells // *Dev. Genet.* — 1980. — **1**. — P. 331—340.
59. Bleecker A.B. Ethylene perception and signalling: an evolutionary perspective // *Trends Plant Sci.* — 1999. — **4**. — P. 269—274.
60. Bohnert H.J., Nelson D.E., Jensen R.G. Adaptation to environmental stresses // *Plant Cell.* — 1995. — **7**. — P. 1099—1111.
61. Coca M.A., Almoguera C., Jordano J. Expression of sunflower lowmolecular-weight heat-shock proteins during embryogenesis and persistence after germination: localization and possible function implications // *Plant Mol. Biol.* — 1994. — **25**. — P. 479—492.
62. Coca M.A., Almoguera C., Thomas T.L., Jordano J. Differential regulation of small heat shock protein genes in plants: analysis of water-stress inducible and developmentally activated sunflower promoter // *Plant Mol. Biol.* — 1996. — **31**. — P. 863—876.
63. Collada C., Gomez L., Casado R., Aragoncillo C. Purification and *in vitro* chaperone activity of a class I small heat-shock protein abundant in recalcitrant chestnut seeds // *Plant Physiol.* — 1997. — **115**. — P. 71—77/
64. Creelman R.A., Mullet J.E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* — 1997. — **48**. — P. 355—381.
65. DeRoche A.E., Vierling E. Developmental control of small heat shock protein expression during pea seed maturation // *Plant J.* — 1994. — **5**. — P. 93—102.
66. Dixon R.A., Palva N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism // *Plant Cell.* — 1995. — **7**. — P. 1085—1097.
67. Eckey-Kaltenbach H., Kiefer E., Grosskopf E., et al. Differential transcript induction of parsley pathogenesis-related proteins and of a small heat shock protein by ozone and heat shock // *Plant Mol. Biol.* — 1997. — **33**. — P. 343—350.
68. Ferguson I.B., Lurie S., Bowen J.H. Protein synthesis and breakdown during heat shock of culture pear (*Pyrus communis* L.) cells // *Plant Physiol.* — 1994. — **104**. — P. 1429—1437.
69. Gallie D.R. Posttranscriptional regulation of gene expression in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* — 1993. — **44**. — P. 77—105.
70. Hare P.D., Cress W.A., van Staden J. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-regulation signal transduction // *J. Exp. Bot.* — 1999. — **50**. — P. 413—434.
71. Jackson M. Hormones from roots as signal for the shoots of stressed plants // *Eiseveir Trends J.* — 1997. — **2**. — P. 22—28.
72. J. van Berkel, Salamini F., Gebhardt C. Transcripts accumulating during cold storage of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers are sequence related to stress-responsive genes // *Plant Physiol.* — 1994. — **104**. — P. 445—452.
73. Key J.L., Lin C.Y., Chen, Y.M. Heat shock proteins of higher plants // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1981. — **78**. — P. 3526—3530.
74. Kim K.K., Kim R., Kim S.H. Crystal structure of a small heat-shock protein // *Nature.* — 1998. — **394**. — P. 595—599.
75. Lavoie J.N., Hickey E., Weber L.A., Landry J. Modulation of actin microfilament dynamics and fluid phase pinocytosis by phosphorylation of heat shock protein 27 // *J. Biol. Chem.* — 1993. — **268**, (32). — P. 24210—24214.
76. Lavoie J.N., Lambert H., Hickey E., et al. Modulation of cellular thermoresistance and actin filament stability accompanies phosphorylation-induced changes in the oligomeric structure of heat shock protein 27 // *Mol. Cell Biol.* — 1995. — **15**, № 1. — P. 505—51
77. Lee G.J., Pokala N., Vierling E. Structure and *in vitro* molecular chaperone activity of cytosolic small heat shock proteins from pea // *J. Biol. Chem.* — 1995. — **270** (18). — P. 10432—10438.
78. Lee G.J., Roseman A.M., Saibil H.R., Vierling E. A small heat shock protein stably binds heat-denatured model substrates and can maintain a substrate in a folding-competent state // *EMBO J.* — 1997. — **16** (3). — P. 659—671.
79. Lee G.J., Vierling E. A small heat shock protein co-operates with heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein // *Plant Physiol.* — 2000. — **122**. — P. 189—197.
80. Lindquist S., Craig, E.A. The heat-shock proteins // *Annu. Rev. Genet.* — 1988. — **22**. — P. 631—677.
81. Meyer A., Muller P., Sembdner G. Air pollution and plant hormones // *Biochem. Physiol. Pflanz.* — 1989. — **182**. — P. 1—21.

82. Neuman D., Novel L., Parthier B. et al. Heat shock and other stress response systems of plants // Biol. Zentralblatt. — 1989. — **108**. — P. 1—156.
83. Nover L., Scharf K.-D., Neumann D. Cytoplasmic heat shock granules are formed from precursor particles and contain a specific set of mRNAs // Mol. Cell Biol. — 1989. — **9**. — P. 1298—1308.
84. Paldi E., Raczi L., Lasztity D. Effect of long period of low temperature exposure on protein synthesis activity in wheat seedlings // Plant Sci. — 1999. — **149**. — P. 59—62.
85. Raskin I. Role of salicylic acid in plants // Annu. Rev. Plant Mol. Biol. — 1992. — **43**. — P. 439—463.
86. Ribaut J.M., Pilet P.E. Water stress and indolyl-acetic acid content maize roots // Planta. — 1994. — **193**. — P. 502—507.
87. Ritossa F. A new puffing pattern induced by heat shock and DNA in *Drosophila* // Experientia. — 1962. — **18**, N 4. — P. 568—571.
88. Ryan C. The systemic signalling pathways: differential activation of plant defensive genes // Biochim. Biophys. Acta. — 2000. — **1477**. — P. 112—121.
89. Sabehat A., Lurie S., Weiss D. Expression of small heat-shock proteins at low temperatures // Plant Physiol. — 1998. — **117**. — P. 651—658.
90. Schlesinger M.J., Ashburner M., Tissieres A. Heat shock: from bacteria to man. — New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982. — 127 p.
91. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agent // Nature. — 1936. — **138**. — P. 32.
92. Skriver K., Mundy J. Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress // Plant Cell. — 1990. — **2**. — P. 503—512.
93. Smykal P., Masin J., Hrdyl et al. Chaperone activity of tobacco HSP18, a HSP, inhibited by ATP // Plant J. — 2000. — **23**. — P. 703—713.
94. Soto A., Allona I., Collada C., Guevara M.-A. et al. Heterologous expression of a plant small heat-shock protein enhance *Echerichia coli* viability under heat and cold stress // Plant Physiol. — 1999. — **120**. — P. 521—528.
95. Tissieres A., Mitchell H.K., Tracy U.M. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster* Relation to chromosome puffs // J. Mol. Biol. — 1974. — **84**. — P. 389—398.
96. Tupy J., Suss I., Rihova V. RNA synthesis and ribosome status in pollen tube growth of *Nicotiana tabacum* L. Effects of external pH // J. Plant Physiol. — 1986. — **123**. — P. 467—474.
97. Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants // Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol. — 1991. — **42**. — P. 579—620.
98. Waters E. R., Lee G. J., Vierling E. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants // J. Exp. Bot. — 1996. — **47**. — P. 325—338.
99. Wehmeyer N., Hernandez L.D., Finkelstein R.R., Vierling, E. Synthesis of small heat shock proteins is a part of the developmental program of a late seed maturation // Plant Physiol. — 1996. — **112**. — P. 747—757.
100. Wehmeyer N., Vierling E. The expression of small heat shock proteins in seeds responds to discrete developmental signals and suggests a general protective role in desiccation tolerance // Plant Physiol. — 2000. — **122**. — P. 1099—1108.
101. Williams J., Bulman M.P., Neill S.J. Wilt-induced ABA biosynthesis, gene expression and down-regulation of rbcS mRNA level in *Arabidopsis thaliana* // Physiol. Plant. — 1994. — **91**. — P. 177—182.

