

РЕДОКС-АКТИВНЫЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ВАКУОЛЕЙ, ПЛАСТИД И МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ

Е.В. Прадедова¹, О.Д. Нимаева¹, А.Б. Карпова², Р.К. Саляев¹

¹ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
Иркутск, e-mail: praded@sifibr.irk.ru

²ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, г. Иркутск,
e-mail: KarpovaAB@yandex.ru

Для нормального функционирования субклеточных структур, в которых протекают разнообразные окислительно-восстановительные процессы, необходима «восстанавливающая» среда. Она поддерживает электрохимический градиент и обеспечивает условия для перемещения электронов (Koffler et al., 2013). Внутренняя среда компартментов, которую формируют разнообразные низкомолекулярные редокс-соединения (доноры/акцепторы электронов), служит своеобразным редокс-буфером. Глутатион, аскорбиновая кислота и НАД(Ф)Н – важные редокс-элементы внутренней среды многих компартментов клетки. Признанным клеточным редокс-буфером считается пара глутатиона, включающая восстановленный (GSH) и окисленный (GSSG) глутатион (Go et al., 2008; Koffler et al., 2013). Повсеместное присутствие и высокая концентрация глутатиона позволили использовать его в качестве основного маркера редокс-состояния клетки и ее структур. Например, интенсивность редокс-процессов в митохондриях, пластидах и цитозоле оценивается редокс-соотношением (GSH/GSSG) (Go et al., 2008; Noctor et al., 2011). Редокс-потенциал этих клеточных структур также характеризуется редокс-потенциалом глутатиона. В норме, как правило, поддерживается относительно высокий восстановленный потенциал (Go et al., 2008).

Редокс-состояние субклеточных структур изменяется при повышении окислительных процессов. Триггерным механизмом зачастую служит генерация активных форм кислорода (АФК). Система глутатиона и АФК в последние годы рассматриваются как главные регуляторы окислительно-восстановительных процессов в цитозоле, пластидах и митохондриях (Noctor et al., 2011). Согласно сложившимся представлениям, в клеточных структурах, в которых поддерживаются кислые условия, например, клеточной стенке, лизосомах и вакуолях, GSH и особенно GSH-зависимые системы, из-за низкой активности в кислой среде, могут быть малоэффективными (Go et al., 2008). По всей видимости, в таких компартментах основным редокс-буфером служит аскорбиновая кислота (АК), которая обратимо окисляется до дегидроаскорбиновой кислоты (ДГА) (Pignocchi et al., 2003). Элементы системы аскорбиновой кислоты и системы глутатиона регулируют редокс-состояние пула АК (АК/ДГА), которое также служит характеристикой редокс-состояния компартментов.

В системе глутатиона и аскорбиновой кислоты основными донорами электронов служат НАДФН и НАДН. С другой стороны, эти динуклеотиды могут быть донорами электронов для O_2 и таким образом способствуют образованию АФК (Lopez-Mirabal, Winther, 2008). В связи с этим редокс-состояние компартментов клетки обусловлено не только редокс-состоянием глутатиона и аскорбиновой кислоты, но и в определенной мере редокс-состоянием динуклеотидов НАД(Ф)⁺/НАД(Ф)Н.

Проводилось исследование редокс-состояния вакуолей, пластид и митохондрий клеток покоящихся корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). В изолированных органеллах было определено содержание восстановленной и окисленной форм глутатиона, аскорбиновой кислоты и НАД(Н). Редокс-соотношение перечисленных соединений служило показателем редокс-состояния исследуемых органелл. Полученные результаты продемонстрировали разное распределение GSH, АК и НАД по внутриклеточным

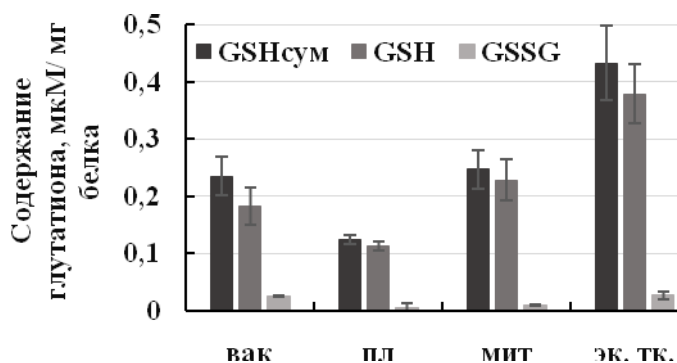


Рис. 1. Содержание глутатиона в изолированных вакуолях (вак), пластидах (пл) и митохондриях (мит), а также экстрактах ткани (эк. тк.).

GSH – восстановленная форма глутатиона. GSSG – окисленная форма глутатиона, GSHсум – суммарная концентрация GSH и GSSG.

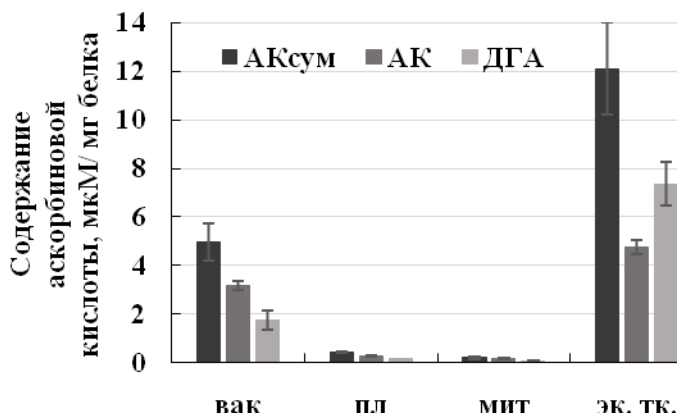


Рис. 2. Содержание аскорбиновой кислоты в исследуемых образцах.

АК – восстановленная форма аскорбиновой кислоты. ДГА – дегидроаскорбиновая кислота. АКсум – суммарная концентрация АК и ДГА.

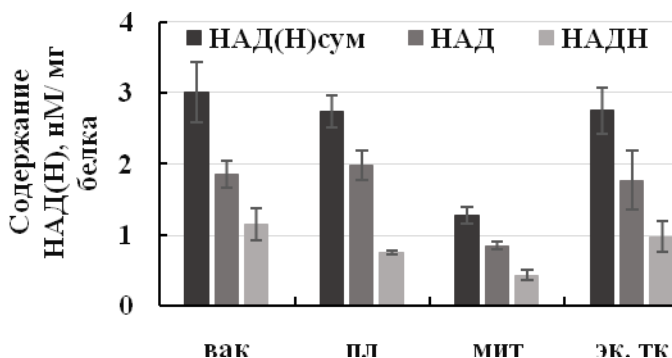


Рис. 3. Содержание НАД(Н) в исследуемых образцах.

НАД(Н)сум – суммарная концентрация НАД и НАДН.

структурам в клетках корнеплодов столовой свеклы (рис. 1, 2, 3).

Наибольшее содержание глутатиона выявлено в митохондриях, а наименьшее – в пластидах (см. рис. 1). Пул глутатиона в вакуолях оказался более окисленным, тогда как в митохондриях он был более восстановленным (табл. 1).

По сравнению с исследуемыми органеллами вакуоли содержали наибольшее количество аскорбиновой кислоты (см. рис. 2). Наименьшее количество АК выявлено в митохондриях. Однако величины редокс-соотношений АК/ДГА так же, как и в случае с редокс-соотношениями GSH/GSSG, были наибольшими у митохондрий и наименьшими у вакуолей (см. табл. 1). Пул аскорбиновой кислоты в вакуолях оказался более окисленным, чем в пластидах и митохондриях.

Согласно сложившимся представлениям, в вакуолях для пиридиннуклеотид -зависимых ферментов основным косубстратом может служить НАД(Н). Однако содержание этого динуклеотида в вакуолях практически не исследовалось. В клетках корнеплодов столовой свеклы этот динуклеотид в относительно высоких концентрациях сосредоточен не только в пластидах, но и вакуолях (см. рис. 3). Вакуоли характеризовались наиболее восстановленным пулом НАД(Н), по сравнению с пластидами и митохондриями (см. табл. 1). Более окисленное состояние глутатиона и аскорбиновой кислоты, на фоне более восстановленного состояния НАД(Н), в

вакуолях говорило об интенсивных окислительных процессах, протекающих в этом компартменте. В вакуолярном содержимом выявлены ферменты, для которых эти низкомолекулярные доноры электронов могут служить субстратом: глутатион-S-

трансферазы, фенольная пероксидаза, аскорбатпероксидаза, аскорбатоксидаза, альдегиддегидрогеназа и др. (Carter et al., 2004; Szponarski et al., 2004; Jaquinod et al., 2007).

Таблица 1

**Редокс-соотношение глутатиона, аскорбиновой кислоты и НАД(Н)
в исследуемых образцах**

	GSH / GSSG	АК / ДГА	НАД / НАДН
Вакуоли	7,4	1,81	1,62
Пластиды	19,8	1,85	2,61
Митохондрии	23,7	2,8	1,93
Экстракт ткани	13,9	0,64	1,81

В то же время, в лейкопластах более окисленное состояние НАД и более восстановленное состояние GSH и АК, несмотря на низкое содержание последних, свидетельствовало о высокой интенсивности восстановительных процессов, в которых НАД и АК могли служить донорами электронов. Более восстановленное состояние глутатиона и аскорбиновой кислоты у митохондрий, указывало на преобладание восстановительных процессов. Пластиды и митохондрии также содержат большое количество разнообразных редокс-ферментов, взаимодействующих с GSH, АК и НАД(Н), и изменяющих их редокс-состояние. Кроме того, редокс-состояние низкомолекулярных доноров электронов изменяют АФК, постоянно генерируемые в этих клеточных структурах.

Полученные результаты позволяют прийти к заключению, что наиболее значимым компонентом редокс-буфера у вакуолей является аскорбиновая кислота, а у митохондрий и пластид – глутатион. Кроме того, у пластид весомый вклад в формирование редокс-условий вносит НАД. В целом, полученные результаты еще раз показали, что в вакуолях пул основных редокс-соединений более окисленный, чем у пластид и митохондрий.