

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОСОБЕННОСТЬ Ca^{2+} -АТФазы СИМБИОСОМНОЙ МЕМБРАНЫ КОРНЕВЫХ КЛУБЕНЬКОВ БОБОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ДЕТЕРМИНАНТ НОВОЙ, УНИКАЛЬНОЙ РОЛИ ЕЕ В КЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ

И.М. Андреев, В.В. Крылова, Р.Ф. Зартдинова, С.Ф. Измайлов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, nitrogenexchange@mail.ru

Аннотация. Принимая во внимание недавно полученные данные о функционировании Ca^{2+} -АТФазы симбиосомной мембраны из корневых клубеньков бобов как $\text{Ca}^{2+}/\text{nH}^{+}$ антипортера, рассматривается гипотеза о новой, уникальной роли ее в клеточной сигнализации партнеров симбиоза, основанной на рН-зависимой модуляции в симбиосомах уровня сигнальных молекул, представленных супероксидом, одной из первичных активных форм кислорода.

Ключевые слова: Ca^{2+} -АТФаза, симбиосома, активные формы кислорода, симбиоз

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-81-83

Известно, что функционирующие в мембранах растительных клеток Ca^{2+} -АТФазы выполняют в них весьма активную сигнальную роль, ибо включаются как в формирование, так и декодирование кальциевых сигналов, индуцируемых стимулами различной природы, действующими на клетку как в нормальных, так и в стрессовых условиях [Kudla et al., 2018]. Это обстоятельство объясняется тем, что АТФазы данного типа участвуют не только в генерации на клеточных мембранах трансмембранных кальциевых градиентов (ΔpCa), но и ответственны за финальную стадию формирования кальциевого сигнала, тем самым определяя одну из наиболее существенных его характеристик.

Согласно имеющимся в настоящее время данным, в некоторых мембранах как животных, так и растительных клеток трансмембранная транслокация Ca^{2+} Ca^{2+} -АТФазами тесно сопряжена с переносом через мембрану в обратном направлении ионов H^{+} , причем также как и транспорт Ca^{2+} он происходит внутри самой белковой молекулы фермента за счет энергии гидролиза АТФ [Bonza and De Michelis, 2011]. Имеются доказательства, что участие протонов в транспортной активности Ca^{2+} -АТФазы требуется для поддержания структурной целостности фермента в ходе его каталитического/транспортного цикла за счет зарядовой нейтрализации его Ca^{2+} -связывающих сайтов после диссоциации от них ионов Ca^{2+} [Obara et al., 2005]. Хотя точная физиологическая роль такого механизма функционирования Ca^{2+} -АТФазы остается пока неясной, предполагается, что способность этих ферментов включаться в регуляцию клеточного метаболизма не ограничивается их участием в кальциевой сигнализации и на самом деле может распространяться и на другие сигнальные каскады, то есть клеточную сигнализацию в более широком смысле [Holton et al., 2010].

Подобный механизм функционирования, как недавно выяснилось в ходе наших исследований, свойственен и Ca^{2+} -АТФазе, локализованной в симбиосомной мембране (СМ) из инфицированных клеток корневых клубеньков бобов. Как было показано нами ранее, эта АТФаза катализирует транспорт Ca^{2+} из их цитозоля внутрь симбиосом, органелло-подобных структур, содержащих бактериоиды, непосредственно ответственные за симбиотическую фиксацию азота в растениях в ходе мутуалистического симбиоза их корневых клеток с почвенными бактериями, ризобиями [Andreev et al., 1999]. Соответственно сказанному выше, основная

функциональная особенность данного фермента состоит в том, что, как показано на рисунке, аккумуляция кальция в симбиосомах, запускаемая действием на СМ Ca^{2+} -АТФазы, сопровождается защелачиванием их симбиосомного пространства (СП), обусловленным выходом из него протонов в обмен на поступление в него ионов Ca^{2+} [Krylova et al., 2017]. За щелочным сдвигом рН внутри симбиосом, запускаемым ИТФ, альтернативным субстратом Ca^{2+} -АТФазы, следили в этих экспериментах с помощью ΔpH -индикатора акридинового оранжевого после предварительного закисления среды внутри них в присутствии протонофора FCCP, ускоряющего эндогенный трансмембранный K^+/H^+ обмен на СМ при их инкубации в бескальциевой среде. Рассматриваемая здесь особенность функционирования Ca^{2+} -АТФ-азы на СМ обращает на себя внимание прежде всего по той причине, что величина рН внутри симбиосом, во многом определяемая активностью на этой мембране H^+ -АТФазы, должна поддерживаться на умеренно низком уровне, чтобы избежать деградации их из-за активации в них кислых протеаз, функция которых может быть реализована в случае преждевременного рН-индуцируемого старения симбиосом. С другой стороны, сохранение умеренно низкого рН внутри симбиосом является необходимым для поддержания их редокс-гомеостаза, то есть относительно низкого уровня здесь активных форм кислорода (АФК), условия, весьма существенного для функционирования симбиосом. Их неизбежное образование, даже в условиях крайне низкой концентрации кислорода, присущих функционирующим симбиосомам, является побочным результатом работы электрон-транспортной дыхательной цепи на плазматической мембране бактериоидов, причем, как и в случае митохондрий, их исходная, первичная форма представлена супероксидом. Кроме того, известно, что метаболизация или преобразование последнего путем дисмутации в гораздо более токсичную форму АФК, H_2O_2 , в существенной степени зависит от рН и сильно ускоряется при низких значениях его. Это означает, что рН-зависимая модуляция образования АФК может быть важным фактором поддержания редокс-гомеостаза в клетках корневых клубеньков или генерации в них сигнальных молекул этого типа, в основном, предположительно, представленных супероксидом. Иначе говоря, изменение рН внутри симбиосом может быть одним из событий, запускающих в них процесс сигнализации с помощью АФК как сигнальных молекул.

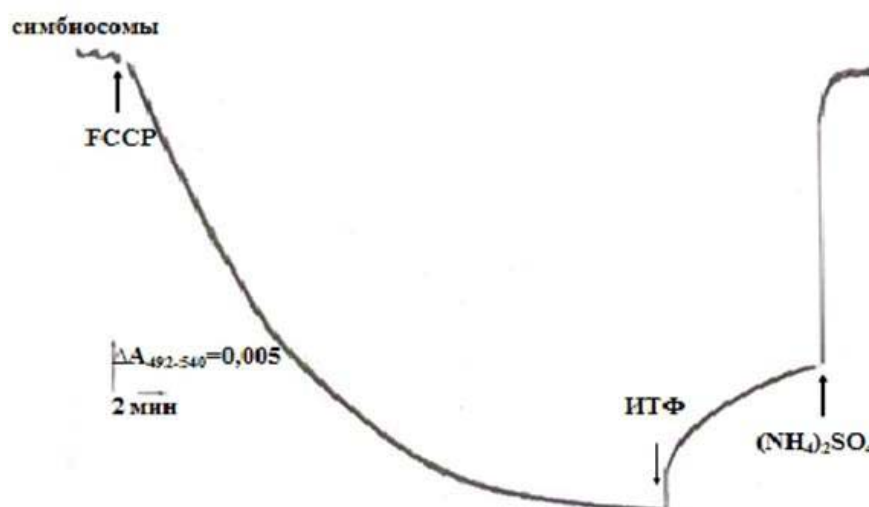


Рисунок. Щелочной сдвиг рН внутри симбиосом, запускаемый ИТФ в бескальциевой среде инкубации, после их предварительного закисления в присутствии FCCP. Стрелками указано добавление 5 мкМ FCCP, 0.5 мМ ИТФ, 10 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

В свете изложенных выше аргументов, предполагается, что функционирующая на СМ Ca^{2+} -АТФаза может включаться в модуляцию рН внутри симбиосом, а именно, защелачивание их СП, и, тем самым, поддержание в этом компартменте уровня супероксида как одной из наиболее важных сигнальных форм АФК, принимающих участие в каскадах сигнальных событий в клетках макро- и микросимбионта. В настоящее время справедливость этой гипотезы находит свое подтверждение в некоторых примерах сигнализации АФК, запускаемой щелочным сдвигом рН в некоторых субклеточных компартментах животных и растительных клеток. Все это приводит к выводу о том, что активность рассматриваемой Ca^{2+} -АТФазы не ограничивается кальциевой сигнализацией и нагрузкой симбиосом ионами Ca^{2+} и, вероятно, играет более универсальную и важную роль в функционировании партнеров симбиоза.

Литература

Andreev I.M., Dubrovo P.N., Krylova V.V., Izmailov S.F. Functional identification of ATP-driven Ca^{2+} pump in the peribacteroid membrane of broad bean root nodules // FEBS Lett. – 1999. – V. 447. – P. 49–52.

Bonza M.C., De Michelis M.I. The plant Ca^{2+} -ATPase repertoire: biochemical features and physiological functions // Plant Biology. – 2011. – V. 13. – P. 421–430.

Holton M.L., Wang W., Emerson M., Neyses L., Armesilla A.L. Plasma membrane calcium ATPase proteins as novel regulators of signal transduction pathways // World J. Biol. Chem. – 2010. – V. 1. – P. 201–208.

Kudla J., Becker D., Grill E., Hedrich R., Hippler M., Kummer U., Parniske M., Romeis T., Schumacher K. Advances and current challenges in calcium signaling // New Phytol. – 2018. – doi: 10.1111/uph.14966.

Obara K., Miyashita N., Xu C., Toyoshima i., Sugita Y., Inesi G. Toyoshima C. Structural role of countertransport revealed in Ca^{2+} pump crystal structure in the absence of Ca^{2+} // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2005. – V. 102. – P. 14489–14496.

FUNCTIONAL FEATURE OF Ca^{2+} -ATPase OF SYMBIOSOME MEMBRANE FROM BROAD BEAN ROOT NODULES AS A POTENTIAL DETERMINANT OF NOVEL, UNIQUE ROLE OF IT IN CELL SIGNALING OF SYMBIOTIC PARTNERS

I.M. Andreev, V.V. Krylova, R.F. Zartdinova, S.F. Izmailov

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, nitrogenexchange@mail.ru

Abstract. Taking into account recently obtained evidence on functioning of Ca^{2+} -ATPase of symbiosome membrane from broad bean root nodules as $\text{Ca}^{2+}/\text{nH}^{+}$ antiporter the hypothesis on novel, unique role of it in cell signaling of symbiotic partners is considered. This is based on pH-dependent modulation in symbiosomes of the level of signal molecules represented by superoxide as one of primary reactive oxygen species.

Keywords: Ca^{2+} -ATPase, symbiosome, reactive oxygen species, symbiosis