

УДК 577.2

МЕМБРАННЫЕ КОНТАКТЫ В СОСТАВЕ ПЛАЗМОДЕСМ: СТРУКТУРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ И ИХ ФУНКЦИИ

Обзор

© 2020 А.В. Панкратенко¹, А.К. Атабекова¹, С.Ю. Морозов^{1,2}, А.Г. Соловьев^{1,2,3,4*}

¹ *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра вирусологии, 119991 Москва, Россия*

² *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119992 Москва, Россия; электронная почта: solovyev@belozersky.msu.ru*

³ *Институт Молекулярной Медицины, Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова, 119991 Москва, Россия*

⁴ *Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Сельскохозяйственной Биотехнологии, 127550 Москва, Россия*

Поступила в редакцию 12.02.2020

После доработки 10.03.2020

Принята к публикации 16.03.2020

Плазмодесмы представляют собой каналы, соединяющие клетки в тканях растений. В плазмодесмах происходит соединение цитоплазмы, плазматической мембраны (ПМ) и эндоплазматического ретикула (ЭПР) соседних клеток. Через плазмодесмы происходит активный транспорт макромолекул, таких как белки и РНК, что обеспечивает функциональную целостность тканей растений и передачу сигналов, необходимых для индивидуального развития и ответов на внешние воздействия. Исследования последних лет показали, что в состав плазмодесм входят мембранные контакты (МК), специализированные структуры, которые формируются при участии ряда белковых компонентов, соединяющих мембраны ЭПР и ПМ. В общем случае, как показано преимущественно для клеток животных, МК между ЭПР и ПМ участвуют в транспорте липидных и белковых компонентов между этими мембранными компартментами, а также в поддержании структурной целостности ЭПР и ответе на стрессы. Структура МК в составе плазмодесм растений изучена существенно хуже, и в настоящее время активные исследования структурных элементов плазмодесм, обеспечивающих связь между ЭПР и ПМ в составе этих органелл, только начинают разворачиваться. В настоящем обзоре рассмотрены белковые компоненты, для которых показано или предполагается участие в формировании МК в плазмодесмах, их структурные и функциональные особенности. Кроме того, обсуждается роль цитоскелета, липидных микродоменов в составе мембран и компонентов клеточной стенки в поддержании структуры МК плазмодесм и ее ремоделировании в ответ на различные биотические и абиотические воздействия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: плазмодесмы, мембранные контакты, эндоплазматический ретикулум, плазматическая мембрана, мембранные микродомены, белки плазмодесм, белки мембранных контактов, вирусы растений.

DOI: 10.31857/S0320972520050024

ВВЕДЕНИЕ

Координация различных метаболических процессов, протекающих в клетках растений,

требует взаимодействия между органеллами. Значительная роль в этом взаимодействии принадлежит процессам, протекающим в зонах мембранных контактов (МК), — структурах,

Принятые сокращения: ЖК — жидкокристаллический; МК — мембранный контакт; ПМ — плазматическая мембрана; ЭПР — эндоплазматический ретикулум; GIPC — гликозилинозитолфосфорил церамиды (glycosyl inositol phosphoglyceramides); GPI — гликозилфосфатидилинозитол (glycosylphosphatidylinositol); Lo — упорядоченные ЖК микродомены мембран; LTP — липид-транспортирующие белки (lipid transfer proteins); PA — фосфатидная кислота (phosphatidic acid); PI(4,5)P₂ — фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate); PI(4)P — фосфатидилинозитол-4-фосфат (phosphatidylinositol-4-phosphate); PIP — фосфатидилинозитолфосфаты (phosphatidylinositol phosphate); PS — фосфатидилсерин (phosphatidylserine); PDCB — семейство белков плазмодесм, связывающих каллозу (plasmodesmata callose binding family); RTNLB — ретикулон-подобные белки (reticulon-like proteins); SEL — предельная пропускная способность (size-exclusion limit).

* Адресат для корреспонденции.

обеспечивающих физическое взаимодействие и транспорт различных молекул между состыкованными мембранами двух органелл.

Различные типы МК были обнаружены в клетках млекопитающих, дрожжей, растений и, по всей видимости, являются эволюционно консервативными для эукариот [1, 2]. МК характеризуются малым (~10–30 нм) расстоянием между мембранами, а также специфическим липидным и белковым составом, в частности, наличием связующих элементов белковой природы, благодаря которым мембраны удерживаются вместе, не сливаясь [3]. Такое строение МК позволяет органеллам функционально взаимодействовать друг с другом посредством кальций-зависимых сигналов, обмена молекулами липидов или транс-взаимодействий белковых комплексов, которые, находясь на одной мембране, могут регулировать процессы, протекающие на другой [4, 5]. В растительных клетках МК участвуют в целом ряде процессов, таких как регуляция развития [6], межклеточная коммуникация [7], а также ответы на стресс, в которые вовлекаются пластиды, митохондрии, пероксисомы и другие органеллы клетки [2, 8, 9].

Особым типом МК, характерным только для растений, являются МК в составе плазмодесм – цитоплазматических каналов, которые соединяют растительные клетки и представляют собой основной путь межклеточной коммуникации и обмена веществами в тканях растений [10]. Поскольку плазмодесмы, имеющие диаметр ~30–50 нм, образованы плазматической мембраной (ПМ) и содержат в центре трубочку ЭПР (десмотрубочку), они представляют собой систему (длиной обычно ~500 нм [11]) из двух мембранных трубок, вставленных одна в другую. ПМ и мембрана десмотрубочки расположены чрезвычайно близко друг к другу (на расстоянии ~10–15 нм [12], а в некоторых случаях это расстояние может достигать 3 нм [13]) и по всей длине канала плазмодесм скреплены неизвестными элементами, подобными спицам колеса и имеющими, по всей видимости, белковую природу [12]. Таким образом, система из двух мембранных структур в составе плазмодесмы может рассматриваться как специализированный МК [1]. В настоящее время сформировалось представление о том, что именно компоненты МК в составе плазмодесм организуют и поддерживают их внутреннюю структуру, а также участвуют в изменении функционального состояния плазмодесм в ответ на различные воздействия. В соответствии с этими взглядами, выявление молекулярных компонентов МК в составе плазмодесм и расшифровка механизмов их функционирования может стать одним из ключей к по-

ниманию механизмов межклеточной коммуникации в растениях, основанной на транспорте через плазмодесмы. Ниже рассмотрены имеющиеся к настоящему времени данные о структуре и функциях МК в составе плазмодесм.

БЕЛКОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ МК ПЛАЗМОДЕСМ

Несмотря на то, что белки, локализующиеся в плазмодесмах, были объектом пристального интереса исследователей, и для их идентификации применяли самые различные подходы [14], долгое время представления о белковом составе плазмодесм оставались довольно ограниченными. Значительный прорыв произошел в последние годы благодаря разработке новых стратегий анализа на основе масс-спектрометрии, субклеточного фракционирования и других методов [15–17].

На сегодняшний день установлено, что в функционировании плазмодесм принимает участие множество различных белков, как непосредственно локализующихся в этих структурах, так и регулирующих их работу извне [15, 16]. В частности, было показано, что в плазмодесмах локализируются белки семейств PDLP (семейство белков, локализующихся в плазмодесмах, *plasmodesmata-located protein family*) [18], влияющие на пропускную способность плазмодесм и, по всей видимости, участвующие в развитии системной приобретенной устойчивости растений [19], и семейство белков плазмодесм, связывающих каллозу (PDCB, *plasmodesmata callose binding family*) [20], а также рецептор-подобные киназы [21, 22], гермин-подобные белки (GLP, *germin-like proteins*) [23] и ретикулон-подобные белки (RTNLB) [24].

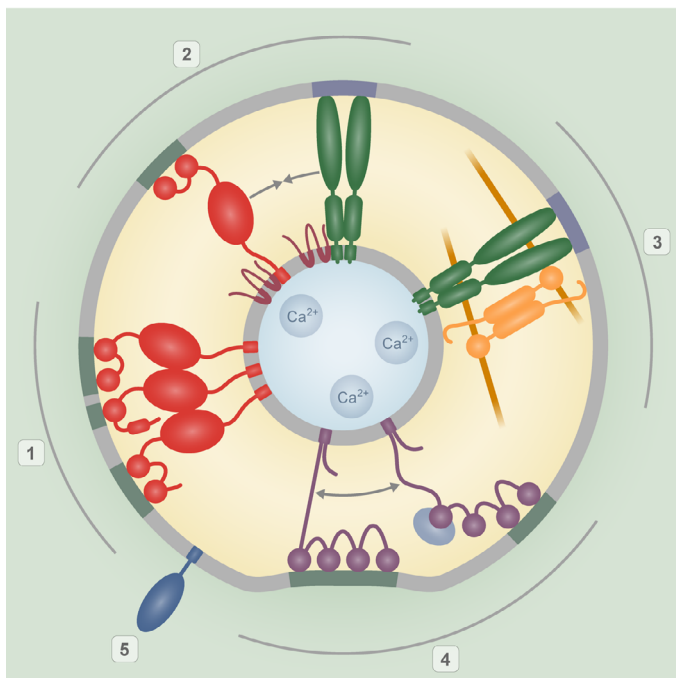
Природа белковых структур, связующих мембраны плазмалеммы и десмотрубочки в плазмодесмах, до сих пор не установлена. Однако, основываясь на структуре уже изученных МК [1, 2], можно предположить, что белки МК в составе плазмодесм имеют следующие характерные черты: они (1) избирательно концентрируются в зонах МК, (2) содержат ЭПР-якорные домены, (3) имеют липид-связывающие мотивы, позволяющие им взаимодействовать с липидами ПМ, (4) обладают достаточным размером, чтобы обеспечивать контакт мембран через разделяющее их цитозольное пространство напрямую (или, возможно, опосредованно через взаимодействие с другими белками). Также можно предположить, что в образовании МК в составе плазмодесм задействованы белки различных семейств, как характерных непосредственно для

плазмодесм, так и функционирующих в других типах МК [1]. Среди семейств растительных белков известно по меньшей мере три, которые участвуют в создании МК между ЭПР и ПМ: белки VAP (the vesicle-associated membrane protein (VAMP)-associated protein) [6], синаптогамины (SYT) [25], а также МСТР [26] (рисунок).

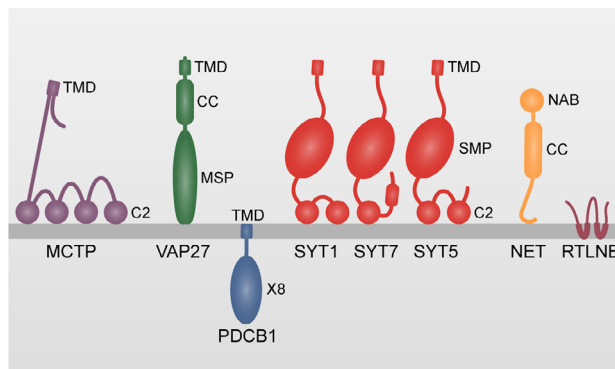
Семейство VAP. Белки семейства VAP консервативны для эукариот и включают C-концевой трансмембранный домен, центральный coiled-coil домен и N-концевой домен MSP (major sperm protein domain) [27]. Домен MSP способен взаимодействовать с фосфатидилинозитол-4-фосфатом [PI(4)P] и фосфатидилсерин (PS) плазмалеммы [28], а также с белками

ПМ, содержащими мотив FFAT (two phenylalanines in an acid tract), тем самым обеспечивая образование МК между ПМ и ЭПР [29] (рисунок). У различных эукариот с белками VAP могут взаимодействовать белки, которые содержат мотив StART (sterol-binding steroidogenic acute regulatory (StAR)-related lipid-transfer motif) и участвуют в переносе липидов между мембранами [3], а также белки, содержащие домен PH (phosphoinositide-binding pleckstrin homology domain) и/или оксистерол-связывающий мотив, которые предположительно необходимы для состыковки мембран в зоне контакта [30]. Показано взаимодействие VAP27 с белками RTNLB3 и RTNLB6 [31] (рисунок).

a



б



Предполагаемые компоненты мембранных контактов в составе плазмодесм. *a* – Схематическое изображение аксиальной проекции канала плазмодесм. Показано пространственное расположение белков и белковых комплексов, образующих контакты между мембраной десмотрубочки (в центре) и плазматической мембраной, прилегающей к клеточной стенке. (1) Межмембранный контакт через комплекс белков SYT1, SYT5 и SYT7. (2) Белки SYT1 и VAP27 напрямую взаимодействуют с ретикулонами семейства RTNLB и опосредованно – друг с другом. Последнее взаимодействие отмечено стрелками. (3) Межмембранный контакт через комплекс белков VAP27 и NET. VAP27 взаимодействует с белком семейства NET через MSP домен, NET связывается с актином через домен NAB и с мембраной через C-концевой участок. VAP27 взаимодействует с липидами и/или белками плазмалеммы, а также с элементами клеточной стенки. (4) Межмембранный контакт через МСТР белки. МСТР белок взаимодействует с отрицательно заряженными липидами мембраны через C2 домены. Взаимодействие с регуляторными белками или изменение концентрации ионов Ca^{2+} приводит к изменению конформации МСТР и сокращению или увеличению расстояния между плазмалеммой и десмотрубочкой. Обратимое изменение конформации МСТР показано стрелкой. (5) GPI-заякоренный белок PDCB1, имеющий сродство к Ло-микродоменам мембраны, связывающийся с каллозой своим X8-доменом и участвующий в процессах отложения каллозы. Мобилизация белка PDCB1 в плазмодесмы может происходить в ответ на индуцированное перераспределение липидов в бислое и образование новых микродоменов. Выделены участки плазмалеммы, обогащенные отрицательно заряженными липидами, которые взаимодействуют с C2-доменами, и зоны контакта VAP27, плазмалеммы и клеточной стенки. Ca^{2+} – ионы кальция. *б* – Белки, формирующие мембранные контакты в составе плазмодесм, и их домены. TMD – трансмембранный домен, C2 – C2-домен, CC – coiled-coil домен, MSP – major sperm protein домен, X8 – X8-домен, SMP – synaptotagmin-like mitochondrial lipid-binding protein домен, NAB – NET-actin-binding домен. (С цветным вариантом рисунка можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>)

В геноме *Arabidopsis thaliana* обнаружено 10 генов, представляющих семейство VAP27 у растений. Нарушения в уровне экспрессии определенных белков этого семейства приводят к плейотропным дефектам в развитии семян, пыльцы и корневых волосков [6]. Белки VAP27 подразделяются на три клады. Клада II характеризуется отсутствием трансмембранного домена; ее представители являются периферическими белками плазмалеммы и не локализируются в зонах МК между ЭПР и ПМ. Представители клады I и III являются интегральными белками ЭПР и участвуют в образовании МК; для белка VAP27-1 показано взаимодействие через MSP-домен с белком NET3C, представителем растительного суперсемейства NET, которое обеспечивает связь актинового цитоскелета с различными мембранными компартментами клетки [32]. Следует отметить, что оба белка, по-видимому, функционируют в виде ди/олигомеров [27]. Для образования МК между ЭПР и плазмалеммой необходимы как трансмембранный домен, так и домен MSP белка VAP27; кроме того, в этот процесс, по всей видимости, вовлечены система цитоскелета и клеточной стенки [6, 27] (рисунок).

На сегодняшний день не получено однозначных доказательств существования пула VAP27 и/или NET3C в плазмодесмах. Следует отметить, однако, что другой представитель семейства NET, белок NET1A, локализуется в плазмодесмах [32]. Также показано опосредованное взаимодействие VAP27 с белком SYT1 *A. thaliana* из семейства синаптоагминов, который участвует в ряде процессов в плазмодесмах [25, 33].

Семейство SYT. Синаптоагмины растений (белки SYT) охарактеризованы относительно недавно; известно, что представители этого семейства участвуют в образовании МК между ЭПР и ПМ [7, 34] и гомологичны белкам E-Syt и Tcb, которые являются связующими элементами в зонах МК клеток млекопитающих и дрожжей [35]. В геноме *A. thaliana* обнаружено семь генов SYT (SYT1–SYT7) [34], и наиболее хорошо изученным является белок SYT1.

SYT1 содержит 1) N-концевой трансмембранный домен, заякоренный в ЭПР; 2) линкерный участок длиной ~40 аминокислот, что соответствует дистанции в ~15 нм и может быть достаточным для состыковки мембран сквозь цитозольное пространство в области МК; 3) цитоплазматический домен SMP (synaptotagmin-like mitochondrial lipid-binding protein domain), который необходим для димеризации E-Syt в клетках млекопитающих и осуществляет перенос липидов между органеллами, образуя, по всей видимости, гидрофобный канал для переноса молекул

от мембраны к мембране [36, 37]; 4) два C-концевых C2 (Ca²⁺-dependent lipid-binding domain) домена. Трансмембранный домен и домен SMP, по-видимому, ограничивают локализацию SYT1 в зонах контакта ЭПР и ПМ, в то время как C2 домены обеспечивают электростатическое взаимодействие белка с отрицательно заряженными фосфолипидами плазмалеммы [25].

В клетках SYT1, по всей видимости, функционирует в составе комплексов, т.к. молекулы SYT1 способны взаимодействовать друг с другом, а также с белками SYT5 и SYT7, которые локализируются в зонах МК между ЭПР и плазмалеммой [34] (рисунок). Действуя вместе, эти белки обеспечивают состыковку мембран и формирование неподвижных трубочек ЭПР, а также сжатие ЭПР перед входом в плазмодесмы для образования десмотрубочек в этих каналах. Отсутствие функционального комплекса SYT1–SYT5–SYT7 приводит к нарушениям в морфологии ЭПР и влияет на межклеточный транспорт и внутриклеточную локализацию транспортного белка вируса YomV (Yousai Mosaic Virus); возможно, это свидетельствует об участии SYT белков в процессах активного транспорта липидов и мембранных белков в десмотрубочках плазмодесм [34].

Ряд других данных также указывает на роль SYT в функционировании плазмодесм: так, например, SYT1 перемещается к плазмодесмам во время вирусной инфекции [7], а утрата его функции приводит к изменениям в регуляции защитных ответов при инфекции [19]. Наконец, в протеоме плазмодесм *A. thaliana* обнаружено несколько SYT белков [1, 17].

SYT1 физически контактирует с рядом белков, таких как стигмастерол-связующий белок ROSY1 [38], ретикулоны RTNLB3 и RTNLB6, которые обнаруживаются в плазмодесмах и необходимы для формирования трубочек ЭПР и поддержания кривизны мембраны ЭПР [31] (рисунок), а также белок VST (VAP-RELATED SUPPRESSOR OF TMM), который задействован в сигналинге с участием киназы ERECTA-LIKE2 (ERL2) из семейства LRR-RLK (leucine-rich repeat receptor-like kinase), локализующейся в ПМ [39]. Кроме того, SYT1 взаимодействует с комплексом SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor), участвующим в слиянии везикул [19]; возможно, SYT1 регулирует этот процесс Ca²⁺-зависимым способом, аналогично белкам SYT млекопитающих [35].

Изменение морфологии ЭПР при функциональной инактивации SYT1 [7] сопровождается частичной деполимеризацией актинового цитоскелета и повышением чувствительности рас-

тений к абиотическим стрессам, связанным с изменением тургора клеток, например, осмотическому стрессу или замораживанию [40, 41], а также к механическому стрессу. При механическом стрессе возрастает экспрессия SYT1. Таким образом, можно предположить, что SYT1, вероятно, является элементом системы механорецепции в растительной клетке. Зоны МК между ЭПР и плазмалеммой могут служить своеобразными деформируемыми платформами, координирующими ответ кортикального ЭПР и цитоскелета на механический стресс, что позволяло бы быстро минимизировать нагрузку на плазмалемму, возникающую в результате механического стресса. Альтернативная модель, основанная на данных, полученных для клеток млекопитающих, предполагает, что механический стимул приводит к сокращению расстояния между ЭПР и ПМ, тем самым, вероятно, усиливая структурную стабилизацию и перенос сигналов между этими компартментами [25].

Еще одна гипотеза предполагает участие SYT1 в передаче кальциевых сигналов по аналогии с E-Syt белками МК млекопитающих. Известно, что у млекопитающих Ca^{2+} -сигналы стимулируют образование и стабилизацию МК или сокращение расстояния между ЭПР и ПМ [42, 43], что сопровождается высокоафинным связыванием Ca^{2+} белками E-Syt, их кластеризацией и усилением электростатического взаимодействия между E-Syt и отрицательно заряженными фосфолипидами плазмалеммы [35]. Схожие процессы могут протекать и в растительных клетках с участием белков МК, содержащих Ca^{2+} -чувствительные модули, например, C2-домены SYT1. Через такие модули кальциевые сигналы могут стимулировать взаимодействие белков SYT с определенными липидами и/или белковыми партнерами с последующим изменением архитектуры зон МК. Подобная модель объясняет ряд наблюдаемых явлений, например, Ca^{2+} -зависимое перемещение ионных каналов от субдоменов ЭПР в субдомены плазмалеммы при солевом стрессе [44], изменение локализации зон МК и Ca^{2+} -зависимую активацию иммунных секреторных путей в ответ на грибковую инфекцию [19] и Ca^{2+} -зависимое изменение пропускной способности плазмодесм [45].

Белки семейства МТСР. Недавно опубликованное исследование показывает, что еще одним классом связующих элементов в зонах МК плазмодесм, вероятно, являются белки семейства МТСР (белки со множественными доменами C2 и трансмембранным районом, multiple C2 domains and transmembrane region proteins) [26]. Два представителя белков МТСР *A. thaliana*, AtMCTP1/Flower Locus T Interacting Protein

(FTIP) и AtMCTP15/QUIRKY (QKY), были ранее описаны как белки плазмодесм, участвующие в межклеточном транспорте сигналов развита [46, 47].

Белки МТСР структурно сходны с синаптогаминами и содержат несколько C-концевых трансмембранных доменов, закоренных в ЭПР, и, возможно, участвующих в поддержании определенной степени изгиба его мембраны, а также от трех до четырех доменов C2 в N-концевой части, способных связываться с отрицательно заряженными фосфолипидами ПМ, в частности, с PI(4)P и с PS. Вероятно, наличие нескольких C2-доменов позволяет белкам МТСР изменять расстояние между мембранами МК за счет изменения конформации в ответ на различные сигналы, например, изменение уровня Ca^{2+} , состава ПМ или появление каких-либо транспортируемых мобильных сигналов [26] (рисунков). Это позволяло бы координировать межклеточный транспорт и взаимодействия между органеллами (вероятно, при участии и других белков).

Установлено, что AtMCTP1/FTIP является партнером белка FT (Flowering Locus T) и необходим для его загрузки во флоэму [46]; AtMCTP15/QUIRKY взаимодействует с рецептор-подобной киназой STRUBBELIG, локализующейся в ПМ и, в том числе, в плазмодесмах [47]; белки AtMCTP3/AtMCTP4 регулируют межклеточный транспорт белка SHOOTMERIS-TEMLESS в апикальную меристему побега [48]. Показано, что белки AtMCTP3 и AtMCTP4 локализованы в плазмодесмах, причем мутация *Atmctp3.Atmctp4* приводит к снижению интенсивности межклеточного транспорта в клетках эпидермиса листа и значительным изменениям в протеоме плазмодесм. Кроме того, экспрессия AtMCTP4 в значительной степени восстанавливает образование МК между ЭПР и плазмалеммой в мутантной линии дрожжей, лишенной шести собственных связующих белков МК [26]. Таким образом, вполне вероятно, что белки МТСР координируют процессы, протекающие в зонах МК плазмодесм, и межклеточную передачу сигналов.

Роль белков цитоскелета. Среди других белков в качестве потенциальных кандидатов на роль связующих элементов в МК плазмодесм также рассматривают некоторые миозины, которые, возможно, способны связываться с ПМ через собственный C-концевой домен, а через «головку», содержащую моторную область, — с F-актином, ассоциированным с десмотрубочкой [49]. Например, миозин АТМ1 класса VIII, который ассоциирован с плазмодесмами, содержит в C-концевом домене кластер основных

аминокислот, взаимодействующих с кислыми фосфолипидами [50], и способен к димеризации (что согласуется с V-образной формой некоторых связующих элементов, обнаруженной с помощью электронной микроскопии) [12]. По своим кинетическим свойствам он скорее является сенсором натяжения, чем моторным белком, поскольку АТМ1 имеет высокое сродство к актину, но низкую скорость скольжения относительно него и низкую АТФазную активность по сравнению с миозинами других классов [51]. Другие исследования также указывают на то, что в функционировании плазмодесм задействован цитоскелет. Так, установлено, что пропускная способность плазмодесм связана с работой актин-миозиновой системы, и разрушение актиновых филаментов может влиять на вирусный межклеточный транспорт [52]. Участие миозинов класса VIII в регулировании пропускной способности плазмодесм подтверждается экспериментами, в которых показано, что ингибирование любого из трех миозинов этого класса блокирует способность транспортного белка вируса табачной мозаики локализоваться в плазмодесмах и супрессирует межклеточный транспорт вируса [53]. Тем не менее вопрос о роли элементов цитоскелета в создании и поддержании МК плазмодесм остается открытым, и большая часть нынешних представлений об этих процессах основана на данных, полученных для МК между ЭПР и ПМ в других частях клетки.

Было показано, что молекулярные взаимодействия между МК, содержащими SYT1, VAP27 и кортикальным актиновым цитоскелетом необходимы для стабилизации системы кортикального ЭПР [33]. NET3C, партнер VAP27, связывается с F-актином через N-концевой домен NAB (NET-actin-binding domain) [27] (рисунок). По-видимому, F-актин не определяет исходную локализацию NET3C, но стабилизирует его ассоциацию с липидами и/или другими мембранными белками плазмалеммы, а также участвует в обновлении пула NET3C. Мобильность и скорость обновления пула VAP27 связана скорее с функционированием микротрубочек. Это указывает на участие элементов цитоскелета в организации МК между ЭПР и плазмалеммой наравне со связующими элементами МК. Были предложены две возможные модели, описывающие этот процесс: (1) VAP27 напрямую соединяет ЭПР и плазмалемму, взаимодействует с NET3C, который локализуется в обоих типах мембран, а также с некоторыми другими белками ПМ, или (2) NET3C при участии других белков образует в зоне МК некие базовые структуры, к которым VAP27 перемещается пос-

ле определенного сигнала или модификации. В обоих вариантах цитоскелет стабилизирует локализацию NET3C и VAP27 в зонах МК [27].

Ряд других данных свидетельствует о том, что, вероятно, система кортикального цитоскелета также предоставляет информацию для образования и позиционирования новых зон МК между ЭПР и ПМ. При этом уже существующие зоны МК, содержащие SYT1 и VAP27, располагаются в областях, лишенных микротрубочек. Таким образом, можно предполагать, что кортикальные микротрубочки не требуются для поддержания уже установленных МК и даже, наоборот, служат для них стерическим препятствием [25].

Следует отметить, что популяция белка SYT1 в растительных клетках неоднородна: помимо пула кортикального SYT1, который преимущественно образует стационарные структуры в зонах МК между ЭПР и плазмалеммой, наблюдается также пул высокоподвижного внутриклеточного белка, чей транспорт прекращается при деполимеризации F-актина. Это указывает на роль актинового цитоскелета в адресном транспорте и обновлении популяции SYT1 в клетке [25]. Важно также подчеркнуть, что регуляция распределения SYT1 системой цитоскелета различается в клетках эпидермиса побега и в зрелых клетках устьиц [25], что, вероятно, свидетельствует о взаимосвязи между этими процессами и клеточной дифференцировкой.

Недавнее исследование белка млекопитающих E-Syt1 указывает на вероятную связь между цитоскелет-зависимым установлением МК и передачей кальциевого сигнала. Так, было обнаружено, что Ca^{2+} -опосредованная активация PERK, сенсора стресса, локализованного в ЭПР, приводит к перераспределению связующих структур E-Syt1, при участии в этом процессе F-актина [54]. В растительных клетках перестройка и динамика цитоскелета часто интегрирована с сигнальными путями Ca^{2+} /кальмодулина [55]. Можно предположить, что координация этих процессов происходит в зонах МК между ЭПР и ПМ. В пользу данной гипотезы свидетельствует наблюдение, что различные представители семейства растительных белков IQD (IQ67 DOMAIN), партнеров кальмодулина, локализируются в статичных субдоменах ПМ, по всей вероятности, являющихся функционально различными сигнальными модулями, которые взаимодействуют с микротрубочками. Однако на данный момент нет однозначного подтверждения, что эти субдомены являются зонами МК [56].

Белки 4/1 и PVL. В функционировании МК плазмодесм могут принимать участие белки, которые мобилизуются в эти структуры в ответ на

определенные воздействия, в частности стрессы различной природы. К этой категории могут относиться белки *Nicotiana tabacum* 4/1 (Nt-4/1) и PBL (plant Bar31-like protein), взаимодействующие друг с другом *in vivo* и *in vitro* [57]. Белок 4/1, который специфичен для растений и не содержит известных функциональных доменов [58], локализуется как в ядре, так и в цитоплазме. Цитоплазматический пул белка образует тельца, ассоциированные с мембранами ЭПР и, вероятно, эндосом. Кроме того, 4/1-содержащие тельца взаимодействуют с актиновым цитоскелетом, который участвует в их внутриклеточном транспорте, и могут быть ассоциированы с плазмодесмами [57, 59, 60]. Делеция N-концевого фрагмента белка Nt-4/1 длиной 90 а.о. нарушает ассоциацию белка с мембранами и его внутриклеточное распределение, приводя к диффузной локализации делеционного мутанта в цитоплазме [57]. Было обнаружено, что ко-экспрессия с NbVAP27 или NtPBL меняет внутриклеточное распределение делеционного варианта Nt-4/1 и приводит к его локализации вдоль трубочек кортикального ЭПР. Кроме того, в условиях механического стресса делеционный вариант Nt-4/1 мобилизуется в сферические структуры, ассоциированные с микротрубочками [61].

Белок NtPBL эволюционно родственен белку млекопитающих Bar31, участвующему в образовании МК между митохондриями и ЭПР [4]. Показано, что NtPBL является интегральным мембранным белком, эффективно связывающим предшественники микро-РНК (миРНК), и экспрессия его РНК-связывающего домена в растениях приводит к фенотипу, характерному для нарушений функций миРНК [62]. Поскольку Nt-4/1 также имеет РНК-связывающую активность, взаимодействуя преимущественно с несовершенными дуплексами РНК [60], эта пара белков может быть вовлечена в сигналинг, связанный с транспортом РНК через плазмодесмы. С учетом изменения локализации мутанта Nt-4/1 в условиях механического стресса и данных о том, что уровень экспрессии гена 4/1 может значительно изменяться при инфекции патогенных грибов [60], можно предположить, что такого рода сигналинг связан с ответом на стрессовые воздействия. В связи с возможной ролью белков Nt-4/1 и PBL в межклеточном транспорте РНК интересно отметить, что белок Nt-4/1 имеет структурное сходство с белком дрожжей She2p [60], являющимся РНК-связывающим белком, обеспечивающим направленный транспорт РНК Ash1, в которой She2p узнает шпилечные участки, являющиеся специфическими сигналами внутриклеточного транспорта [63]. Согласно компьютерным предска-

ниям, третичная структура белка Nt-4/1 формируется преимущественно α -спиралями и проявляет определенное сходство с пространственной укладкой полипептидной цепи белка She2p [58–60]. С другой стороны, показано, что белок Nt-4/1 способен к нуклео-цитоплазматическому транспорту [59]. С учетом этих данных можно предположить, что белок Nt-4/1 взаимодействует в ядре с молекулами РНК, включающими элементы вторичной структуры, которые являются сигналами транспорта, и обеспечивает их выход в цитоплазму. Дальнейший внутриклеточный транспорт таких комплексов может происходить с участием белка PBL, взаимодействующего как с белком Nt-4/1, так и с транспортируемыми молекулами РНК. Поскольку белок PBL является интегральным белком ЭПР, такой транспорт, вероятнее всего, происходит вдоль трубочек кортикального ЭПР.

РОЛЬ ЛИПИДОВ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ МК ПЛАЗМОДЕСМ

Функционирование мембран в клетке определяется их белковым и липидным составом. Для мембран плазмалеммы, ЭПР и других оргanelл характерно образование мембранных микродоменов, представляющих собой отдельные функциональные зоны мембраны, которые имеют специфические липидные и белковые профили; в частности, был показан специфический липидный состав для мембран плазмодесм [64]. В основе образования микродоменов лежат различные факторы: свойства молекул липидов, биофизические характеристики мембраны (текучесть, толщина бислоя, изгиб, электростатические свойства), а также согласованная работа определенных белковых комплексов. Возникающие микродомены позволяют создать сложную систему, распознаваемую различными белками с липид-сенсорными доменами и обеспечивающую адресную доставку и специфическую локализацию многих мембранных белков в клетке [11, 20]. По всей вероятности, строгий контроль липидного состава и латеральной организации мембраны имеет большое значение для архитектуры и структурной пластичности плазмодесм [1].

Текучесть мембраны и формирование липидных микродоменов во многом обуславливаются разделением жидкокристаллических (ЖК) фаз, которое возникает в результате взаимодействия молекул стеролов с белками и липидами, содержащими насыщенные углеводородные цепочки. Благодаря этому формируются стерол-

обогащенные упорядоченные ЖК микродомены (Lo) и неупорядоченные ЖК микродомены (Ld). Стабильность этого разделения фаз поддерживается благодаря наличию липидов с ненасыщенными ацильными цепями [65, 66]. Степень жесткости/текучести мембраны связана с относительным содержанием в ней стеролов, поскольку плоская жесткая структура их молекул создает ограничения для ацильных цепей соседних молекул липидов [67]. Уровень содержания стеролов вкуче с упорядоченностью и длиной ацильных цепей липидов влияет на толщину бислоя [66].

Ряд данных указывает на связь между свойствами липидных микродоменов и характеристиками интегральных белков (в частности, их трансмембранных доменов), что лежит в основе механизма сортировки мембранных белков, называемого принципом гидрофобного несоответствия [68]. Так, например, исследование, описывающее протеом плазмодесм *Populus trichocarpa*, показало, что длина трансмембранных доменов белков плазмодесм увеличена по сравнению с белками микросом [69]. Таким образом, можно предположить, что ПМ в составе плазмодесм обладает сравнительно большей толщиной и имеет структуру, подобную стерольным/сфинголипидным Lo-микродоменам [10]. Возможно, субкомпартиментализация в мембранах плазмодесм происходит согласно другой модели: определенные интегральные белки или липиды могут выступать в качестве «затравки», вокруг которой бислой переходит в твердое состояние (гель-фазу), образуя специфический упорядоченный микродомен [70].

Одна из гипотез предполагает, что в растительных клетках образование микродоменов ПМ происходит с участием специфических для растений сфинголипидов GIPC (гликозилитолфосфорил церамидов). GIPC характеризуются очень длинными (до 28 атомов углерода) насыщенными ацильными цепями и, по всей видимости, локализируются преимущественно в наружном слое мембраны [71]. Обнаружено, что полигликозилированные GIPC способствуют увеличению размеров и жесткости фитостерол-зависимых упорядоченных микродоменов Lo [72]. Кроме того, длинные ацильные цепи GIPC могут взаимодействовать с ацильными цепями липидов в полифосфоинозитид-обогащенных микродоменах внутреннего липидного слоя ПМ, что приводит к «сцеплению» доменов внутреннего и наружного слоев ПМ между собой [71]. Согласно ряду данных, определенные зоны МК обогащены сфинголипидами и фитостеролами, однако, до сих пор неизвестно, какое значение имеет поддержание такого мик-

роокружения для взаимодействия между оргanelлами [11].

Один из потенциальных механизмов поддержания стабильности микродоменов в ПМ может заключаться в «ограждении» этих доменов структурными элементами, которые связаны с кортикальным цитоскелетом [73] и влияют на мобильность периферических и интегральных белков. Кроме того, стеролы могут напрямую взаимодействовать с каркасными белками, например, из семейства тетраспанинов, которые, в частности, обнаружены в плазмодесмах [64].

На образование и стабильность микродоменов мембраны влияют также ее искривление и упаковка липидов в бислое. Эти параметры могут определять взаимодействие с различными периферическими белками, которые узнают особенности локальной упаковки липидов. Примером могут служить белки, чувствительные к изгибам мембраны, которые взаимодействуют с ней своими амфипатическими спиральями [74]. Изгиб мембраны сам по себе может являться движущей силой для сортировки молекул в зависимости от их свойств, как это было показано для липидов [75] и некоторых трансмембранных белков [76]. В свою очередь, определенные белки, такие как, например, полипептиды, несущие домен ENTH (Epsin N-terminal homology domain; домен N-концевой гомологии с эпсином) или локальные изменения в составе липидов (см. ниже), могут вызывать искривление мембраны [77].

В плазмодесмах мембраны плазмалеммы и десмотрубочки имеют существенную кривизну. Из-за особенностей упаковки липидов во внешнем слое мембраны и кластеризации липидов, имеющих маленькие полярные группы, вероятно, происходит образование локальных липидных микродоменов и пространственная сегрегация белков, взаимодействующих с такими субдоменами, что обеспечивает функциональное разделение разных зон МК [1, 11].

Механизм, который вызывает и стабилизирует изгиб ПМ в плазмодесмах, неизвестен. С другой стороны, недавно было показано, что формирование десмотрубочки в первичных плазмодесмах происходит, по-видимому, с участием ретикулонов RTNLB3 и RTNLB6 [24]. Локальная геометрия мембраны в краевых участках плазмодесмы может стимулировать кластеризацию стеролов и сфинголипидов, что в определенных условиях, вероятно, играет роль при сортировке гликофосфатидилинозитол (GPI)-заякоренных белков [64]. Следует отметить, что метаболизм липидов может иметь значение для процессов передачи сигналов, протекающих с участием плазмодесм, поскольку было показа-

но, что сфингоидные основания, продукт расщепления сфинголипидов, выступают вторичными мессенджерами при клеточной гибели, индуцированной патогенами [78].

Некоторые из известных белков, являющихся связующими элементами МК, имеют домены, ассоциирующиеся с изгибами мембран. Так, например, белок Osh4p имеет мотив LPS (lipid-packing sensor), который может обеспечивать взаимодействие белка с искривленными мембранами [79]; домены C2 белков SYT млекопитающих могут стимулировать Ca^{2+} -зависимый локальный изгиб мембраны [80]. Можно предположить, что AtSYT1, локализующийся в плазмодесмах и содержащий два домена C2 [25], преимущественно ассоциируется с положительно изогнутыми концевыми участками плазмодесм, а C2-мотивы, связывая конические липиды, такие, как PIP, усиливают их кластеризацию во внутреннем слое мембраны и вызывают перестройку мембранных структур [1].

Кроме растительных белков МСТР и синаптоагминов, описанных выше, стоит отметить также липид-транспортирующие белки (LTP, lipid transfer proteins), которые осуществляют транспорт липидов и в ряде случаев сами могут являться связующими элементами МК [81]. Многие белки LTP содержат определенные комбинации доменов, что, возможно, обеспечивает их точную адресацию к зонам тех или иных МК [5]. Часто встречающимися типами доменов LTP являются домены C2 и PH (pleckstrin homology) [82], которые взаимодействуют с отрицательно заряженными липидами. Кроме того, некоторые домены LTP содержат мотив ALPS (ArfGAP1 lipid-packing sensor), способный связываться с сильно искривленными мембранами [83].

Заряд полярных групп липидов является еще одним важным фактором, влияющим на разделение мембран на различные функциональные зоны. Основной группой отрицательно заряженных липидов, которые определяют электростатические характеристики внутреннего слоя ПМ, являются фосфатидилинозитол-4-фосфат PI(4)P и фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат PI(4,5)P₂ [84, 85]. Недавние исследования показывают, что, по-видимому, электростатическое поле мембраны регулируется сочетанием нескольких типов анионных липидов (фосфатидная кислота (PA), PI(4)P и PS) [86]. Это комбинирование создает специфические заряды в различных зонах мембраны и позволяет обеспечить локализацию в этих зонах катионных белков, таких как регулятор транспорта brassinостероидов BK11 (BR11 KINASE INHIBITOR1) или AGC-киназы PINOID и

D6PK (D6-PROTEIN KINASE) [85, 86]. Зоны МК характеризуются повышенной концентрацией анионных липидов, что указывает на их роль в поддержании и функционировании этих структур, возможно, связанную со взаимодействием таких липидов с компонентами МК [11]. На сегодняшний день неизвестно, какие виды фосфатидилинозитол фосфатов (PIP) ассоциированы с плазмодесмами. Однако существование белков плазмодесм, имеющих C2-домены, таких, как SYT1 и QUIRKY, позволяет предположить, что PI(4)P и PI(4,5)P₂ декорируют ПМ в этих каналах [7, 47].

При рассмотрении взаимодействий между анионными липидами и различными белками следует учитывать влияние таких факторов, как локальные модификации липидов, pH, а также градиентные и локальные концентрации ионов, которые влияют на электростатический профиль мембраны [11]. Так, зоны МК являются сайтами передачи Ca^{2+} сигналов, и Ca^{2+} модулирует функционирование E-Syt1 [87]. Однако, с другой стороны, ионы Ca^{2+} могут экранировать полярные группы PIP, тем самым препятствуя связыванию белков и липидов в этих областях [88]. В недавних исследованиях показано, что локальные колебания в концентрации бивалентных катионов влияют на форму мембран, содержащих анионные липиды, из-за того, что ионные взаимодействия приводят к кластеризации PS и PI(4,5)P₂, что, в свою очередь, вызывает возникновение кривизны липидного бислоя [89]. Эти и другие изменения в микроокружении элементов МК, связывающих две мембраны, влияют на их структурные модификации, что позволяет инициировать и передать сигнал на уровне МК в целом за счет сокращения расстояния между мембранами, обмена молекулами липидов, сборки или разборки белковых комплексов [87].

Важную роль в функционировании МК играет липидный обмен. При этом белки LTP связываются с анионными липидами мембран и производят перенос определенных молекул липидов от донорной мембраны к акцепторной, экранируя липиды от водного окружения с помощью транспортных доменов [90]. В частности, было показано, что белки OSBP и ORP/Osh (OSBP-Related Proteins) в зонах МК взаимодействуют с белками VAP для обеспечения обмена молекулами стеролов, PS и PIP между ЭПР и плазмалеммой [91]. Osh4 использует дисбаланс в распределении PI(4)P, возникающий в результате работы фосфатазы Sac1p, для обмена PI(4)P из транс-цистерн аппарата Гольджи на молекулы стеролов ЭПР, тем самым обогащая мембраны транс-АГ стеролами и поддерживая пул

PI(4)P в мембранах ЭПР [79]. Еще одним примером регуляции липидного состава является перенос PS от мембраны ЭПР к плазмалемме в обмен на PI(4)P и PI(4,5)P₂, переносимые из плазмалеммы к ЭПР [92, 93], который обеспечивается белками ORP5/8. Интересно, что поддержание пула PI(4)P в мембранах ЭПР связано с белком CERT, который обеспечивает перенос сфинголипидов к мембранам транс-цистерн АГ [94]. Следует отметить, что некоторые белки E-Syt млекопитающих, например, E-Syt2, вероятно, участвуют в транспорте липидов за счет образования липидных туннелей с помощью SMP-доменов [36].

Липидный обмен в зонах МК формирует специфичность мембран и позволяет создавать липидные градиенты, необходимые для работы различных молекулярных механизмов [78, 91, 94]. Хотя наличие липидного обмена в плазмодесмах не установлено окончательно, этот процесс мог бы иметь большое значение для их функционирования, учитывая, что из-за значительной длины этих каналов, особенно в зрелых тканях, доставка везикул вглубь плазмодесм может быть сильно затруднена [11]. Кроме того, регулируемый перенос липидов позволял бы регулировать форму мембран, поскольку ассиметричное распределение липидов конической формы между двумя слоями мембраны может вызвать ее искривление независимо от эффекта интегрированных белков [95].

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ФУНКЦИОНИРОВАНИЕМ МК И КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ

В последние годы появляются данные, которые указывают на области МК между ЭПР и плазмалеммой как на часть интегрированной системы «ЭПР–плазмалемма–клеточная стенка». Например, отсутствие клеточной стенки влияет на мобильность VAR27 в зонах МК [6, 40]. Элементы внеклеточного матрикса взаимодействуют с белками и липидами ПМ, ограничивая их латеральную подвижность и стабилизируя микродомены плазмалеммы. Подобные взаимодействия в зонах МК, вероятно, позволяют также стабилизировать структуру кортикального ЭПР и интегрировать сигналы, поступающие от его компарментов и клеточной стенки [43]. Можно предположить, что эти процессы играют важную роль в функционировании плазмодесм, поскольку в этих структурах ПМ и клеточная стенка тесно контактируют между собой.

МК в плазмодесмах, вероятнее всего, могут напрямую определять их пропускную способ-

ность (SEL, size-exclusion limit). Существующие на данный момент модели предполагают, что SEL зависит от физических характеристик цитоплазматического рукава, основным регулятором которых является β-1,3-глюкан каллоза: многочисленные исследования показывают, что каллозо-опосредованное изменение SEL плазмодесм происходит в ответ на широкий спектр сигналов развития и биотических/абиотических стимулов [96, 97]. Откладывание и удаление каллозы во внеклеточном матриксе, окружающем плазмодесму, вызывает сближение или расхождение плазмалеммы и десмотрубочки, тем самым влияя на объем цитоплазматического рукава и определяя SEL. Однако данные, полученные в последние годы, свидетельствуют о том, что регуляция проводимости плазмодесм значительно сложнее и, по-видимому, связана в первую очередь не с собственно их архитектурой, а с изменением их молекулярного состава [1].

Уровень отложения каллозы определяется работой трансмембранных каллозо-синтазных комплексов и β-1,3-глюканазы, заякоренных в мембране и обращенных основной частью в апопласт. Было показано, что фенотипы растений, мутантных по синтезу стеролов и каллозо-синтазным комплексам, сходны между собой [98]. На основании этого исследователи выдвинули гипотезу, согласно которой в обмене каллозы в плазмодесмах играют роль структурные стеролы. Следует учесть, что сайт-специфичное отложение каллозы в краевых участках плазмодесм означает, что ферменты, участвующие в этом процессе, должны адресно доставляться в определенные субдомены ПМ. Это тоже может служить аргументом в пользу взаимосвязи между каллозным обменом и регуляцией липидного состава мембраны [10, 98].

Было обнаружено, что в клетках меристемы перед удалением каллозных пробок в районе плазмодесм наблюдается транспорт липидных телец, являющихся производными ЭПР, которые располагаются в местах входа в плазмодесму и содержат β-1,3-глюканазы. Можно предположить, что эти ферменты встраиваются в ПМ в обход секреторного пути, вероятно, взаимодействуя с липидными микродоменами ее внутреннего слоя. Этот механизм мог бы обеспечивать доставку к плазмодесмам и других их компонентов [99].

Отложение каллозы в области плазмодесм регулируется целым рядом различных белков. Синтез каллозы индуцируется в ответ на активацию рецепторов LYM2 и FLS2, локализованных в плазмодесмах, а также рецептор-подобных белков PDLP [22, 100, 101]. Кроме того, каллозный обмен регулируется GPI-заякоренными

белками PDCB, что также указывает на роль липидного состава мембраны в регуляции SEL. Белки PDCB не имеют энзиматической активности, но могут связываться с каллозой через X8-домен [20]. Было показано, что PDCB1 риза совместно с белком группы 6 семейства реморин-ов регулируют проводимость плазмодесм, за-действуя отложение каллозы [102], и что реморин группы 1 в листьях *Nicotiana benthamiana* влияет на вирусный транспорт, по-видимому, являясь негативным регулятором SEL [103].

Интересно отметить, что сигналом локализации в плазмодесмах двух белков метаболизма каллозы, β -1,3-глюканазы BG_{par} и PDCB1, является GPI, имеющий сродство к Lo-микро-доменам мембраны [104]. В соответствии с этими данными изменение биосинтеза стеролов влияет на распределение GPI-заякоренных белков в плазмодесмах при делении клеток и, как следствие, на отложение каллозы и пропускную способность плазмодесм [64] (рисунок).

Следует отметить, что в ряде случаев процессы отложения каллозы могут регулироваться белками, которые перемещаются к плазмодесмам в ответ на различные стрессы. Так, недавно предложенная модель изменения SEL при солевом стрессе постулирует, что повышенные концентрации соли индуцируют кальциевый сигнал, который, в свою очередь, активирует фосфолипазу PLD α 1 и вызывает ее перераспределение из цитоплазмы к ПМ; это, в свою очередь, приводит к образованию PA и изменению свойств мембраны. В результате рецептор-подобная киназа CRK2, в норме локализуемая в ПМ, мобилизуется к определенным доменам плазмодесм и там взаимодействует с каллозо-синтазой CALS1. Это приводит к отложению каллозы и повышает устойчивость растения к солевому стрессу [22]. Мобилизация к плазмодесмам в ответ на осмотический стресс была показана и для рецептор-подобных киназ QSK1 (Qiān Shou Kinase) и IMK2 (Inflorescence Meristem Kinase2). Обработка клеток маннитолом, вызывающая осмотический стресс, приводила к фосфорилированию QSK1 и стремительному перераспределению этих белков. В результате потеря функции QSK1 вызывала замедленное развитие боковых корней у *Arabidopsis thaliana* и повышенную чувствительность к осмотическому стрессу, а также снижение уровня отложения каллозы в плазмодесмах [21].

Контроль SEL может осуществляться и другими путями, не связанными с каллозным обменом. Так, показано, что внеклеточный матрикс, в котором пролегают плазмодесмы, отличается пониженным содержанием целлюлозы и обога-

щен пектиновыми полисахаридами, которые образуют гидрированный гель, облегчающий создание новых каналов в этой области клеточной стенки [105]. Модификация пектинов влияет на жесткость клеточной стенки, а для плазмодесм была показана активность пектин-метил-эстеразы и пектиназы [106, 107], что, очевидно, связано с локальным изменением свойств клеточной стенки при осцилляции пор плазмодесм [1]. В протеоме плазмодесм был также обнаружен ряд других белков, участвующих в росте и модификации клеточной стенки [17].

Важную роль в регуляции проводимости плазмодесм играет передача Ca²⁺-сигналов. Было показано, что около плазмодесм локализуются белки ЭПР из семейства кальретикулинов, обладающие Ca²⁺-связывающей активностью [108] и, кроме того, накопление активных форм кислорода, вызывающее отложение каллозы в клеточной стенке, индуцирует всплеск уровня Ca²⁺ в цитозоле [109, 110]. Наконец, закупоривание ситовидных элементов флоэмы при атаке патогена, по-видимому, связано с локальным возрастанием концентрации Ca²⁺ около ситовидных пластинок и в области плазмодесм, соединяющих ситовидные элементы с клетками-спутницами [45]. Поскольку десмотрубочка может выступать резервуаром Ca²⁺ в этих процессах, можно представить, что Ca²⁺-каналы плазмалеммы и ЭПР могут действовать скоординировано, локализуясь в зонах МК плазмодесм [1].

Согласно одной из моделей рецептор-индуцированного сигнала Ca²⁺ в зонах МК между ЭПР и плазмалеммой, повышение уровня Ca²⁺ вызывает расширение области МК и последующее привлечение белка Nir2, участвующего в переносе PI из мембраны ЭПР к плазмалемме [29]. Этот перенос обеспечивает индукцию локального сигнала за счет образования инозитол-трифосфата (IP3). Кроме того, как уже обсуждалось выше, ионы кальция, наряду с анионными липидами, могут влиять на функционирование связующих элементов в зонах МК: индуцированное изменение конформации белков может вызывать сокращение или увеличение цитозольного пространства между мембранами, тем самым изменяя пропускную способность плазмодесм (рисунок). Кроме того, структура МК и, соответственно, значение SEL может изменяться при перераспределении связующих элементов. Совокупность этих процессов, вероятно, обеспечивает динамичную перестройку плазмодесм в процессе их функционирования [1], а также контроль межклеточного транспорта. В совокупности это указывает на плазмодесмы как на крайне важные узлы сигнальных путей в растительных клетках.

УЧАСТИЕ ОБЛАСТЕЙ МК В РАЗВИТИИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Плазмодесмы являются единственным путем межклеточного транспорта вирусной инфекции в растении. Транспортные белки вирусов обеспечивают достаточную пропускную способность этих каналов и транслокацию вирусного генома по их цитоплазматическому рукаву. Вирусы также взаимодействуют с зонами МК и на другой стадии инфекции: РНК-вирусы реплицируются на значительно модифицированных внутриклеточных мембранах хозяина, образуя сложные «вирусные фабрики», содержащие плотно состыкованные, сетеподобные или изогнутые мембранные структуры [111]. Связующие белки МК могут быть вовлечены в образование этих «фабрик». Так, например, вирус кустистой карликовости томата (*Tomato bushy stunt virus*) при репликации в клетках дрожжей и растений мобилизует белок дрожжей Scs2 и его растительный гомолог VAP27-3, а также участвующие в липидном обмене белки ORP1 дрожжей и ORP3 растений, чтобы индуцировать пролиферацию мембран в сайтах синтеза вирусной РНК [6, 112]. Интересно, что, по-видимому, в ряде случаев взаимодействие вирусов с компонентами МК для транспорта и для репликации может быть функционально связано: некоторые вирусы создают сайты репликации на модифицированных мембранах непосредственно у входа в плазмодесмы [7, 113]. До сих пор неясно, требуется ли это всего лишь для большей скорости и эффективности межклеточного транспорта вирусных рибонуклеопротеидов или необходимо непосредственно для модификации и открытия каналов плазмодесм. Однако тот факт, что SYT1 необходим для транспорта ряда вирусов и при инфекции перемещается к плазмодесмам [7], говорит в пользу второго предположения.

Растительные клетки препятствуют вирусному транспорту с помощью индукции отложений каллозы в клеточных стенках вокруг плазмо-

десм; транспортные белки вирусов, в свою очередь, взаимодействуют с клеточными факторами, которые ингибируют эти процессы [1, 114, 115]. Эти наблюдения также указывают на взаимосвязь между развитием вирусной инфекции и изменением в работе плазмодесм на уровне липидных и белковых систем, в частности, на уровне МК.

Накопление знаний о плазмодесмах, длившееся десятилетиями, привело к пониманию того, что внутренняя структура плазмодесм имеет характерные черты МК между ПМ и ЭПР. Развитие этих представлений позволило уйти от механистического понимания плазмодесм как межклеточных каналов, пропускная способность которых определяется несколькими простыми факторами, и создало концептуальную базу для дальнейших функциональных исследований плазмодесм как сложных, многокомпонентных систем, интегрирующих черты МК, специализированных мембранных микродоменов и связанных с этими структурами функционально обособленных районов клеточной стенки. Полученные к настоящему дню данные показывают, что МК в составе плазмодесм представляют собой динамические структуры, вносящие важный вклад в регулирование пропускной способности плазмодесм. Дальнейшее изучение компонентов МК в составе плазмодесм, а также молекулярных механизмов функционирования этих структур и способов их регуляции приближает нас к пониманию общих механизмов межклеточной коммуникации в растениях.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 17-14-01032).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Данная статья не содержит исследований, в которых в качестве объектов использовали людей или животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tilsner, J., Nicolas, W., Rosado, A., and Bayer, E. M. (2016) Staying tight: plasmodesmal membrane contact sites and the control of cell-to-cell connectivity in plants, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **67**, 23.1-23.28, doi: 10.1146/annurev-arplant-043015-111840.
2. Prinz, W. A., Toulmay, A., and Balla, T. (2020) The functional universe of membrane contact sites, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **21**, 7-24, doi: 10.1038/s41580-019-0180-9.
3. Alpy, F., Rousseau, A., Schwab, Y., Legueux, F., Stoll, I., Wendling, C., Spiegelhalter, C., Kessler, P., Mathelin, C., Rio, M. C., Levine, T. P., and Tomasetto, C. (2013) STARD3/STARD3NL and VAP make a novel molecular tether between late endosomes and the ER, *J. Cell Sci.*, **126**, 5500-5512, doi: 10.1242/jcs.139295.
4. Iwasawa, R., Mahul-Mellier, A. L., Datler, C., Pazarentzos, E., and Grimm, S. (2011) Fis1 and Bap31 bridge the mitochondria-ER interface to establish a platform for apoptosis induction, *EMBO J.*, **30**, 556-568, doi: 10.1038/emboj.2010.346.
5. Hanada, K. (2018) Lipid transfer proteins rectify inter-organelle flux and accurately deliver lipids at membrane contact sites, *J. Lipid Res.*, **59**, 1341-1366, doi: 10.1194/jlr.R085324.

6. Wang, P., Richardson, C., Hawkins, T. J., Sparkes, I., Hawes, C., and Hussey, P. J. (2016) Plant VAP27 proteins: domain characterization, intracellular localization and role in plant development, *New Phytol.*, **210**, 1311-1326, doi: 10.1111/nph.13857.
7. Levy, A., Zheng, J. Y., and Lazarowitz, S. G. (2015) Synaptotagmin SYTA forms ER-plasma membrane junctions that are recruited to plasmodesmata for plant virus movement, *Curr. Biol.*, **25**, 2018-2025, doi: 10.1016/j.cub.2015.06.015.
8. Liu, L., and Li, J. (2019) Communications between the endoplasmic reticulum and other organelles during abiotic stress response in plants, *Front. Plant Sci.*, **10**, 749, doi: 10.3389/fpls.2019.00749.
9. Michaud, M., and Jouhet, J. (2019) Lipid trafficking at membrane contact sites during plant development and stress response, *Front. Plant Sci.*, **10**, 2, doi: 10.3389/fpls.2019.00002.
10. Bayer, E. M., Mongrand, S., and Tilsner, J. (2014) Specialized membrane domains of plasmodesmata, plant intercellular nanopores, *Front. Plant Sci.*, **5**, 507, doi: 10.3389/fpls.2014.00507.
11. Petit, J. D., Immel, F., Lins, L., and Bayer, E. M. (2019) Lipids or proteins: who is leading the dance at membrane contact sites, *Front. Plant Sci.*, **10**, 198, doi: 10.3389/fpls.2019.00198.
12. Ding, B., Turgeon, R., and Parthasarathy, M. V. (1992) Substructure of freeze-substituted plasmodesmata, *Protoplasma*, **169**, 28-41, doi: 10.1007/BF01343367.
13. Nicolas, W. J., Grison, M. S., Trépout, S., Gaston, A., Fouché, M., Cordelières, F. P., Oparka, K., Tilsner, J., Brocard, L., and Bayer, E. M. (2017) Architecture and permeability of post-cytokinesis plasmodesmata lacking cytoplasmic sleeves, *Nat. Plants*, **3**, 17082, doi: 10.1038/nplants.2017.82.
14. Faulkner, C., and Maule, A. (2011) Opportunities and successes in the search for plasmodesmal proteins, *Protoplasma*, **248**, 27-38, doi: 10.1007/s00709-010-0213-x.
15. Salmon, M. S., and Bayer, E. M. F. (2013) Dissecting plasmodesmata molecular composition by mass spectrometry-based proteomics, *Front. Plant Sci.*, **3**, 307, doi: 10.3389/fpls.2012.00307.
16. Kraner, M. E., Müller, C., and Sonnewald, U. (2017) Comparative proteomic profiling of the Choline transporter-like 1 (CHER1) mutant provides insights into plasmodesmata composition of fully developed *Arabidopsis thaliana* leaves, *Plant J.*, **92**, 696-709, doi: 10.1111/tpj.13702.
17. Fernandez-Calvino, L., Faulkner, C., Walshaw, J., Saalbach, G., Bayer, E., Benitez-Alfonso, Y., and Maule, A. (2011) *Arabidopsis* plasmodesmal proteome, *PLoS One.*, **6**, e18880, doi: 10.1371/journal.pone.0018880.
18. Thomas, C. L., Bayer, E. M., Ritzenthaler, C., Fernandez-Calvino, L., and Maule, A. J. (2008) Specific targeting of a plasmodesmal protein affecting cell-to-cell communication, *PLoS Biol.*, **6**, e7, doi: 10.1371/journal.pbio.0060007.
19. Kim, H., Kwon, H., Kim, S., Kim, M. K., Botella, M. A., Yun, H. S., and Kwon, C. (2016) Synaptotagmin 1 negatively controls the two distinct immune secretory pathways to powdery mildew fungi in *Arabidopsis*, *Plant Cell Physiol.*, **57**, 1133-1141, doi: 10.1093/pcp/pcw061.
20. Simpson, C., Thomas, C., Findlay, K., Bayer, E., and Maule, A. J. (2009) An *Arabidopsis* GPI-anchor plasmodesmal neck protein with callose binding activity and potential to regulate cell-to-cell trafficking, *Plant Cell.*, **21**, 581-594, doi: 10.1105/tpc.108.060145.
21. Grison, M. S., Kirk, P., Brault, M. L., Wu, X. N., Schulze, W. X., Benitez-Alfonso, Y., Immel, F., and Bayer, E. M. (2019) Plasma membrane-associated receptor-like kinases relocalize to plasmodesmata in response to osmotic stress, *Plant Physiol.*, **181**, 142-160, doi: 10.1104/pp.19.00473.
22. Hunter, K., Kimura, S., Rokka, A., Tran, H. C., Toyota, M., Kukkonen, J. P., and Wrzaczek, M. (2019) CRK2 Enhances salt tolerance by regulating callose deposition in connection with PLD α 1, *Plant Physiol.*, **180**, 2004-2021, doi: 10.1104/pp.19.00560.
23. Ham, B. K., Li, G., Kang, B. H., Zeng, F., and Lucas, W. J. (2012) Overexpression of *Arabidopsis* plasmodesmata germin-like proteins disrupts root growth and development, *Plant Cell*, **24**, 3630-3648, doi: 10.1105/tpc.112.101063.
24. Knox, K., Wang, P., Kriechbaumer, V., Tilsner, J., Frigerio, L., Sparkes, I., Hawes, C., and Oparka, K. (2015) Putting the squeeze on plasmodesmata: a role for reticulons in primary plasmodesmata formation, *Plant Physiol.*, **168**, 1563-1572, doi: 10.1104/pp.15.00668.
25. Pérez-Sancho, J., Vanneste, S., Lee, E., McFarlane, H. E., Esteban Del Valle, A., Valpuesta, V., Friml, J., Botella, M. A., and Rosado, A. (2015) The *Arabidopsis* synaptotagmin1 is enriched in endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites and confers cellular resistance to mechanical stresses, *Plant Physiol.*, **168**, 132-143, doi: 10.1104/pp.15.00260.
26. Brault, M. L., Petit, J. D., Immel, F., Nicolas, W. J., Glavier, M., Brocard, L., Gaston, A., Fouché, M., Hawkins, T. J., Crowet, J. M., Grison, M. S., Germain, V., Rocher, M., Kraner, M., Alva, V., Claverol, S., Paterlini, A., Helariutta, Y., Deleu, M., Lins, L., Tilsner, J., and Bayer, E. M. (2019) Multiple C2 domains and transmembrane region proteins (MCTPs) tether membranes at plasmodesmata, *EMBO Rep.*, **20**, e47182, doi: 10.15252/embr.201847182.
27. Wang, P., Hawkins, T. J., Richardson, C., Cummins, I., Deeks, M. J., Sparkes, I., Hawes, C., and Hussey, P. J. (2014) The plant cytoskeleton, NET3C, and VAP27 mediate the link between the plasma membrane and endoplasmic reticulum, *Curr. Biol.*, **24**, 1397-1405, doi: 10.1016/j.cub.2014.05.003.
28. Kagiwada, S., and Hashimoto, M. (2007) The yeast VAP homolog Scs2p has a phosphoinositide-binding ability that is correlated with its activity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **364**, 870-876, doi: 10.1016/j.bbrc.2007.10.079.
29. Chang, C. L., Hsieh, T. S., Yang, T. T., Rothberg, K. G., Azizoglu, D. B., Volk, E., Liao, J. C., and Liou, J. (2013) Feedback regulation of receptor-induced Ca²⁺ signaling mediated by E-Syt1 and Nir2 at endoplasmic reticulum-plasma membrane junctions, *Cell Rep.*, **5**, 813-825, doi: 10.1016/j.celrep.2013.09.038.
30. Murphy, S. E., and Levine, T. P. (2016) VAP, a versatile access point for the endoplasmic reticulum: review and analysis of FFAT-like motifs in the VAPome, *Biochim. Biophys. Acta*, **1861**, 952-961, doi: 10.1016/j.bbali.2016.02.009.
31. Kriechbaumer, V., Botchway, S. W., Slade, S. E., Knox, K., Frigerio, L., Oparka, K., and Hawes, C. (2015) Reticulomics: protein-protein interaction studies with two plasmodesmata-localized reticulon family proteins identify binding partners enriched at plasmodesmata, endoplasmic reticulum, and the plasma membrane, *Plant Physiol.*, **169**, 1933-1945, doi: 10.1104/pp.15.01153.
32. Deeks, M. J., Calcutt, J. R., Ingle, E. K., Hawkins, T. J., Chapman, S., Richardson, A. C., Mentlak, D. A., Dixon, M. R., Cartwright, F., Smertenko, A. P., Oparka, K., and Hussey, P. J. (2012) A superfamily of actin-binding proteins at the actin-membrane nexus of higher plants, *Curr. Biol.*, **22**, 1595-1600, doi: 10.1016/j.cub.2012.06.041.

33. Siao, W., Wang, P., Voigt, B., Hussey, P. J., and Baluska, F. (2016) Arabidopsis SYT1 maintains stability of cortical endoplasmic reticulum networks and VAP27-1-enriched endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites, *J. Exp. Bot.*, **67**, 6161-6171, doi: 10.1093/jxb/erw381.
34. Ishikawa, K., Tamura, K., Fukao, Y., and Shimada, T. (2019) Structural and functional relationships between plasmodesmata and plant endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites consisting of three synaptotagmins, *New Phytol.*, doi: 10.1111/nph.16391.
35. Fernández-Busnadiego, R., Saheki, Y., and De Camilli, P. (2015) Three-dimensional architecture of extended synaptotagmin-mediated endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, E2004-E2013, doi: 10.1073/pnas.1503191112.
36. Schauder, C. M., Wu, X., Saheki, Y., Narayanaswamy, P., Torta, F., Wenk, M. R., De Camilli, P., and Reinisch, K. M. (2014) Structure of a lipid-bound extended synaptotagmin indicates a role in lipid transfer, *Nature*, **510**, 552-555, doi: 10.1038/nature13269.
37. Reinisch, K. M., and De Camilli, P. (2016) SMP-domain proteins at membrane contact sites: structure and function, *Biochim. Biophys. Acta*, **1861**, 924-927, doi: 10.1016/j.bbali.2015.12.003.
38. Dalal, J., Lewis, D. R., Tietz, O., Brown, E. M., Brown, C. S., Palme, K., Muday, G. K., and Sederoff, H. W. (2016) ROSY1, a novel regulator of gravitropic response is a stigmaterol binding protein, *J. Plant Physiol.*, **196-197**, 28-40, doi: 10.1016/j.jplph.2016.03.011.
39. Ho, C. M., Paciorek, T., Abrash, E., and Bergmann, D. C. (2016) Modulators of stomatal lineage signal transduction alter membrane contact sites and reveal specialization among ERECTA kinases, *Dev. Cell.*, **38**, 345-357, doi: 10.1016/j.devcel.2016.07.016.
40. Schapire, A. L., Voigt, B., Jasik, J., Rosado, A., Lopez-Cobollo, R., Menzel, D., Salinas, J., Mancuso, S., Valpuesta, V., Baluska, F., and Botella, M. A. (2008) Arabidopsis synaptotagmin 1 is required for the maintenance of plasma membrane integrity and cell viability, *Plant Cell*, **20**, 3374-3388, doi: 10.1105/tpc.108.063859.
41. Yamazaki, T., Kawamura, Y., Minami, A., and Uemura, M. (2008) Calcium-dependent freezing tolerance in Arabidopsis involves membrane resealing via synaptotagmin SYT1, *Plant Cell*, **20**, 3389-3404, doi: 10.1105/tpc.108.062679.
42. Dickson, E. J., Jensen, J. B., and Hille, B. (2016) Regulation of calcium and phosphoinositides at endoplasmic reticulum-membrane junctions, *Biochem. Soc. Trans.*, **44**, 467-473, doi: 10.1042/BST20150262.
43. Bayer, E. M., Sparkes, I., Vanneste, S., and Rosado, A. (2017) From shaping organelles to signalling platforms: the emerging functions of plant ER-PM contact sites, *Curr. Opin. Plant Biol.*, **40**, 89-96, doi: 10.1016/j.pbi.2017.08.006.
44. Held, K., Pascaud, F., Eckert, C., Gajdanowicz, P., Hashimoto, K., Corratgé-Faillie, C., Offenborn, J. N., Lacombe, B., Dreyer, I., Thibaud, J. B., and Kudla, J. (2011) Calcium-dependent modulation and plasma membrane targeting of the AKT2 potassium channel by the CBL4/CIPK6 calcium sensor/protein kinase complex, *Cell Res.*, **21**, 1116-1130, doi: 10.1038/cr.2011.50.
45. Musetti, R., Buxa, S. V., De Marco, F., Loschi, A., Polizzotto, R., Kogel, K. H., and van Bel, A. J. (2013) Phytoplasma-triggered Ca²⁺ influx is involved in sieve-tube blockage, *Mol. Plant Microbe Interact.*, **26**, 379-386, doi: 10.1094/MPMI-08-12-0207-R.
46. Liu, L., Liu, C., Hou, X., Xi, W., Shen, L., Tao, Z., Wang, Y., and Yu, H. (2012) FTIP1 is an essential regulator required for florigen transport, *PLoS Biol.*, **10**, e1001313, doi: 10.1371/journal.pbio.1001313.
47. Vaddepalli, P., Herrmann, A., Fulton, L., Oelschner, M., Hillmer, S., Stratil, T. F., Fastner, A., Hammes, U. Z., Ott, T., Robinson, D. G., and Schneitz, K. (2014) The C2-domain protein QUIRKY and the receptor-like kinase STRUBBELIG localize to plasmodesmata and mediate tissue morphogenesis in Arabidopsis thaliana, *Development*, **141**, 4139-4148, doi: 10.1242/dev.113878.
48. Liu, L., Li, C., Song, S., Teo, Z. W. N., Shen, L., Wang, Y., Jackson, D., and Yu, H. (2018) FTIP-dependent STM trafficking regulates shoot meristem development in Arabidopsis, *Cell Rep.*, **23**, 1879-1890, doi: 10.1016/j.celrep.2018.04.033.
49. Robyn L. Overall, R. L., and Blackman, L. M. (1996) A model of the macromolecular structure of plasmodesmata, *Trends Plant Sci.*, **1**, 307-311, doi: 10.1016/S1360-1385(96)88177-0.
50. Knight, A. E., and Kendrick-Jones, J. (1993) A myosin-like protein from a higher plant. *J. Mol. Biol.*, **231**, 148-154, doi: 10.1006/jmbi.1993.1266.
51. Haraguchi, T., Tominaga, M., Matsumoto, R., Sato, K., Nakano, A., Yamamoto, K., and Ito, K. (2014) Molecular characterization and subcellular localization of Arabidopsis class VIII myosin, ATM1, *J. Biol. Chem.*, **289**, 12343-12355, doi: 10.1074/jbc.M113.521716.
52. Su, S., Liu, Z., Chen, C., Zhang, Y., Wang, X., Zhu, L., Miao, L., Wang, X. C., and Yuan, M. (2010) Cucumber mosaic virus movement protein severs actin filaments to increase the plasmodesmal size exclusion limit in tobacco, *Plant Cell*, **22**, 1373-1387, doi: 10.1105/tpc.108.064212.
53. Amari, K., Di Donato, M., Dolja, V. V., and Heinlein, M. (2014) Myosins VIII and XI play distinct roles in reproduction and transport of tobacco mosaic virus, *PLoS Pathog.*, **10**, e1004448, doi: 10.1371/journal.ppat.1004448.
54. Van Vliet, A. R., Giordano, F., Gerlo, S., Segura, I., Van Eygen, S., Molenberghs, G., Rocha, S., Houcine, A., Derua, R., Verfaillie, T., Vangindertael, J., De Keersmaecker, H., Waelkens, E., Tavernier, J., Hofkens, J., Annaert, W., Carmeliet, P., Samali, A., Mizuno, H., and Agostinis, P. (2017) The ER stress sensor PERK coordinates ER-plasma membrane contact site formation through interaction with filamin-A and F-actin remodeling, *Mol. Cell*, **65**, 885-899, doi: 10.1016/j.molcel.2017.01.020.
55. Hepler, P. K. (2016) The Cytoskeleton and its regulation by calcium and protons, *Plant Physiol.*, **170**, 3-22, doi: 10.1104/pp.15.01506.
56. Bürstenbinder, K., Möller, B., Plötner, R., Stamm, G., Hause, G., Mitra, D., and Abel, S. (2017) The IQD family of calmodulin-binding proteins links calcium signaling to microtubules, membrane subdomains, and the nucleus, *Plant Physiol.*, **173**, 1692-1708, doi: 10.1104/pp.16.01743.
57. Pankratenko, A. V., Atabekova, A. K., Lazareva, E. A., Baksheeva, V. E., Zhironkina, O. A., Zernii, E. Y., Owens, R. A., Solovyev, A. G., and Morozov, S. Y. (2017) Plant-specific 4/1 polypeptide interacts with an endoplasmic reticulum protein related to human BAP31, *Planta*, **245**, 193-205, doi: 10.1007/s00425-016-2601-8.
58. Makarova, S. S., Minina, E. A., Makarov, V. V., Semenyuk, P. I., Kopertekh, L., Schiemann, J., Serebryakova, M. V., Erokhina, T. N., Solovyev, A. G., and Morozov, S. Y. (2011) Orthologues of a plant-specific At-4/1 gene in the genus Nicotiana and the structural properties of bacterially expressed 4/1 protein, *Biochimie*, **93**, 1770-1778, doi: 10.1016/j.biochi.2011.06.018.

59. Solovyev, A. G., Minina, E. A., Makarova, S. S., Erokhina, T. N., Makarov, V. V., Kaplan, I. B., Kopertekh, L., Schiemann, J., Richert-Pöggeler, K. R., and Morozov, S. Y. (2013) Subcellular localization and self-interaction of plant-specific Nt-4/1 protein, *Biochimie*, **95**, 1360-1370, doi: 10.1016/j.biochi.2013.02.015.
60. Morozov, S. Y., Makarova, S. S., Erokhina, T. N., Kopertekh, L., Schiemann, J., Owens, R. A., and Solovyev, A. G. (2014) Plant 4/1 protein: potential player in intracellular, cell-to-cell and long-distance signaling, *Front. Plant Sci.*, **5**, 26, doi: 10.3389/fpls.2014.00026.
61. Atabekova, A. K., Lazareva, E. A., Strelkova, O. S., Solovyev, A. G., and Morozov, S. Y. (2018) Mechanical stress-induced subcellular re-localization of N-terminally truncated tobacco Nt-4/1 protein, *Biochimie*, **144**, 98-107, doi: 10.1016/j.biochi.2017.10.020.
62. Atabekova, A. K., Pankratenko, A. V., Makarova, S. S., Lazareva, E. A., Owens, R. A., Solovyev, A. G., and Morozov, S. Y. (2017) Phylogenetic and functional analyses of a plant protein related to human B-cell receptor-associated proteins, *Biochimie*, **132**, 28-37, doi: 10.1016/j.biochi.2016.10.009.
63. Müller, M., Richter, K., Heuck, A., Kremmer, E., Buchner, J., Jansen, R. P., and Niessing, D. (2009) Formation of She2p tetramers is required for mRNA binding, mRNP assembly, and localization, *RNA*, **15**, 2002-2012, doi: 10.1261/rna.1753309.
64. Grison, M. S., Brocard, L., Fouillen, L., Nicolas, W., Wewer, V., Dörmann, P., Nacir, H., Benitez-Alfonso, Y., Claverol, S., Germain, V., Boutté, Y., Mongrand, S., and Bayer, E. M. (2015) Specific membrane lipid composition is important for plasmodesmata function in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, **27**, 1228-1250, doi: 10.1105/tpc.114.135731.
65. Marsh, D. (2010) Liquid-ordered phases induced by cholesterol: a compendium of binary phase diagrams, *Biochim. Biophys. Acta*, **1798**, 688-699, doi: 10.1016/j.bbammem.2009.12.027.
66. Javanainen, M., Martinez-Seara, H., and Vattulainen, I. (2017) Nanoscale membrane domain formation driven by cholesterol, *Sci. Rep.*, **7**, 1143, doi: 10.1038/s41598-017-01247-9.
67. Dufourc, E. J. (2008) Sterols and membrane dynamics, *J. Chem. Biol.*, **1**, 63-77, doi: 10.1007/s12154-008-0010-6.
68. Milovanovic, D., Honigmann, A., Koike, S., Göttfert, F., Pähler, G., Junius, M., Müller, S., Diederichsen, U., Janshoff, A., Grubmüller, H., Risselada, H. J., Eggeling, C., Hell, S. W., van den Bogaart, G., and Jahn, R. (2015) Hydrophobic mismatch sorts SNARE proteins into distinct membrane domains, *Nat. Commun.*, **6**, 5984, doi: 10.1038/ncomms6984.
69. Leijon, F., Melzer, M., Zhou, Q., Srivastava, V., and Bulone, V. (2018) Proteomic analysis of plasmodesmata from populus cell suspension cultures in relation with callose biosynthesis, *Front. Plant Sci.*, **9**, 1681, doi: 10.3389/fpls.2018.01681.
70. De Almeida, R. F., and Joly, E. (2014) Crystallization around solid-like nanosized docks can explain the specificity, diversity, and stability of membrane microdomains, *Front. Plant Sci.*, **5**, 72, doi: 10.3389/fpls.2014.00072.
71. Gronnier, J., Germain, V., Gouguet, P., Cacas, J. L., and Mongrand, S. (2016) GIPC: Glycosyl Inositol Phospho Ceramides, the major sphingolipids on earth, *Plant Signal. Behav.*, **11**, e1152438, doi: 10.1080/15592324.2016.1152438.
72. Grosjean, K., Mongrand, S., Beney, L., Simon-Plas, F., and Gerbeau-Pissot, P. (2015) Differential effect of plant lipids on membrane organization: specificities of phyto-
73. Konrad, S. S., and Ott, T. (2015) Molecular principles of membrane microdomain targeting in plants, *Trends Plant Sci.*, **20**, 351-361, doi: 10.1016/j.tplants.2015.03.016.
74. Cannon, K. S., Woods, B. L., Crutchley, J. M., and Gladfelter, A. S. (2019) An amphipathic helix enables septins to sense micrometer-scale membrane curvature, *J. Cell Biol.*, **218**, 1128-1137, doi: 10.1083/jcb.201807211.
75. Baoukina, S., Ingólfsson, H. I., Marrink, S. J., and Tieleman, D. P. (2018) Curvature-induced sorting of lipids in plasma membrane tethers, *Adv. Theory Simul.*, **1**, 1800034, doi: 10.1002/adts.201800034.
76. Aimon, S., Callan-Jones, A., Berthaud, A., Pinot, M., Toombes, G. E., and Bassereau, P. (2014) Membrane shape modulates transmembrane protein distribution, *Dev. Cell*, **28**, 212-218, doi: 10.1016/j.devcel.2013.12.012.
77. Makowski, S. L., Kuna, R. S., and Field, S. J. (2019) Induction of membrane curvature by proteins involved in Golgi trafficking, *Adv. Biol. Regul.*, **75**, 100661, doi: 10.1016/j.jbior.2019.100661.
78. González-Solís, A., Cano-Ramírez, D. L., Morales-Cedillo, F., Tapia de Aquino, C., and Gavilanes-Ruiz, M. (2014) *Arabidopsis* mutants in sphingolipid synthesis as tools to understand the structure and function of membrane microdomains in plasmodesmata, *Front. Plant Sci.*, **5**, 3, doi: 10.3389/fpls.2014.00003.
79. De Saint-Jean, M., Delfosse, V., Douguet, D., Chicanne, G., Payraastre, B., Bourguet, W., Antonny, B., and Drin, G. (2011) Osh4p exchanges sterols for phosphatidylinositol 4-phosphate between lipid bilayers, *J. Cell Biol.*, **195**, 965-978, doi: 10.1083/jcb.201104062.
80. Martens, S., Kozlov, M. M., and McMahon, H. T. (2007) How synaptotagmin promotes membrane fusion, *Science*, **316**, 1205-1208, doi: 10.1126/science.1142614.
81. Eisenberg-Bord, M., Shai, N., Schuldiner, M., and Bohnert, M. (2016) A tether is a tether is a tether: tethering at membrane contact sites, *Dev. Cell*, **39**, 395-409, doi: 10.1016/j.devcel.2016.10.022.
82. Wong, L. H., Gatta, A. T., and Levine, T. P. (2019) Lipid transfer proteins: the lipid commute via shuttles, bridges and tubes, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **20**, 85-101, doi: 10.1038/s41580-018-0071-5.
83. Drin, G., Casella, J. F., Gautier, R., Boehmer, T., Schwartz, T. U., and Antonny, B. (2007) A general amphipathic α -helical motif for sensing membrane curvature, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 138-146, doi: 10.1038/nsmb1194.
84. Simon, M. L., Platre, M. P., Assil, S., van Wijk, R., Chen, W. Y., Chory, J., Dreux, M., Munnik, T., and Jaillais, Y. (2014) A multi-colour/multi-affinity marker set to visualize phosphoinositide dynamics in *Arabidopsis*, *Plant J.*, **77**, 322-37, doi: 10.1111/tpj.12358.
85. Simon, M. L., Platre, M. P., Marquès-Bueno, M. M., Armengot, L., Stanislas, T., Bayle, V., Caillaud, M. C., and Jaillais, Y. (2016) A PtdIns(4)P-driven electrostatic field controls cell membrane identity and signalling in plants, *Nat. Plants*, **2**, 16089, doi: 10.1038/nplants.2016.89.
86. Platre, M. P., Noack, L. C., Doumane, M., Bayle, V., Simon, M. L. A., Maneta-Peyret, L., Fouillen, L., Stanislas, T., Armengot, L., Pejchar, P., Caillaud, M. C., Potocký, M., Copic, A., Moreau, P., and Jaillais, Y. (2018) A combinatorial lipid code shapes the electrostatic landscape of plant endomembranes, *Dev. Cell.*, **45**, 465-480, e11, doi: 10.1016/j.devcel.2018.04.011.
87. Bian, X., Saheki, Y., and De Camilli, P. (2018) Ca²⁺ releases E-Syt1 autoinhibition to couple ER-plasma membrane

- tethering with lipid transport, *EMBO J.*, **37**, 219-234, doi: 10.15252/embj.201797359.
88. Himschoot, E., Pleskot, R., Van Damme, D., and Vanneste, S. (2017) The ins and outs of Ca²⁺ in plant endomembrane trafficking, *Curr. Opin. Plant Biol.*, **40**, 131-137, doi: 10.1016/j.pbi.2017.09.003.
 89. Graber, Z. T., Shi, Z., and Baumgart, T. (2017) Cations induce shape remodeling of negatively charged phospholipid membranes, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **19**, 15285-15295, doi: 10.1039/c7cp00718c.
 90. Lahiri, S., Toulmay, A., and Prinz, W. A. (2015) Membrane contact sites, gateways for lipid homeostasis, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **33**, 82-87, doi: 10.1016/j.ceb.2014.12.004.
 91. Olkkonen, V. M. (2015) OSBP-related protein family in lipid transport over membrane contact sites, *Lipid Insights*, **8**, 1-9, doi: 10.4137/LPI.S31726.
 92. Chung, J., Torta, F., Masai, K., Lucast, L., Czapla, H., Tanner, L. B., Narayanaswamy, P., Wenk, M. R., Nakatsu, F., and De Camilli, P. (2015) PI4P/phosphatidylserine countertransport at ORP5- and ORP8-mediated ER-plasma membrane contacts, *Science*, **349**, 428-432, doi: 10.1126/science.aab1370.
 93. Ghai, R., Du, X., Wang, H., Dong, J., Ferguson, C., Brown, A. J., Parton, R. G., Wu, J. W., and Yang, H. (2017) ORP5 and ORP8 bind phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate (PtdIns(4,5)P₂) and regulate its level at the plasma membrane, *Nat. Commun.*, **8**, 757, doi: 10.1038/s41467-017-00861-5.
 94. Yamaji, T., Kumagai, K., Tomishige, N., and Hanada, K. (2008) Two sphingolipid transfer proteins, CERT and FAPP2: their roles in sphingolipid metabolism, *IUBMB Life*, **60**, 511-518, doi: 10.1002/iub.83.
 95. McMahon, H. T., and Boucrot, E. (2015) Membrane curvature at a glance, *J. Cell Sci.*, **128**, 1065-1070, doi: 10.1242/jcs.114454.
 96. Sager, R., and Lee, J. Y. (2014) Plasmodesmata in integrated cell signalling: insights from development and environmental signals and stresses, *J. Exp. Bot.*, **65**, 6337-6358, doi: 10.1093/jxb/eru365.
 97. Dorokhov, Y. L., Ershova, N. M., Sheshukova, E. V., and Komarova, T. V. (2019) The role of plasmodesmata-associated receptor in plant development and environmental response, *Plants (Basel)*, **8**, E595, doi: 10.3390/plants8120595.
 98. De Storme, N., and Geelen, D. (2014) Callose homeostasis at plasmodesmata: molecular regulators and developmental relevance, *Front Plant Sci.*, **5**, 138, doi: 10.3389/fpls.2014.00138.
 99. Paul, L. K., Rinne, P. L., and van der Schoot, C. (2014) Refurbishing the plasmodesmal chamber: a role for lipid bodies, *Front. Plant Sci.*, **5**, 40, doi: 10.3389/fpls.2014.00040.
 100. Lee, J. Y., Wang, X., Cui, W., Sager, R., Modla, S., Czymbek, K., Zybaliov, B., van Wijk, K., Zhang, C., Lu, H., and Lakshmanan, V. (2011) A plasmodesmata-localized protein mediates crosstalk between cell-to-cell communication and innate immunity in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, **23**, 3353-3373, doi: 10.1105/tpc.111.087742.
 101. Wang, X., Sager, R., Cui, W., Zhang, C., Lu, H., and Lee, J. Y. (2013) Salicylic acid regulates plasmodesmata closure during innate immune responses in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, **25**, 2315-2329, doi: 10.1105/tpc.113.110676.
 102. Gui, J., Liu, C., Shen, J., and Li, L. (2014) Grain setting defect1, encoding a remorin protein, affects the grain setting in rice through regulating plasmodesmatal conductance, *Plant Physiol.*, **166**, 1463-1478, doi: 10.1104/pp.114.246769.
 103. Perraki, A., Binaghi, M., Mecchia, M. A., Gronnier, J., German-Retana, S., Mongrand, S., Bayer, E., Zelada, A. M., and Germain, V. (2014) StRemorin1.3 hampers potato virus X TGBp1 ability to increase plasmodesmata permeability, but does not interfere with its silencing suppressor activity, *FEBS Lett.*, **588**, 1699-1705, doi: 10.1016/j.febslet.2014.03.014.
 104. Zavaliev, R., Dong, X., and Epel, B. L. (2016) Glycosylphosphatidylinositol (GPI) modification serves as a primary plasmodesmal sorting signal, *Plant Physiol.*, **172**, 1061-1073, doi: 10.1104/pp.16.01026.
 105. Faulkner, C., Akman, O. E., Bell, K., Jeffree, C., and Oparika, K. (2008) Peeking into pit fields: a multiple twinning model of secondary plasmodesmata formation in tobacco, *Plant Cell*, **20**, 1504-1518, doi: 10.1105/tpc.107.056903.
 106. Morvan, O., Quentin, M., Jauneau, A., Mareck, A., and Morvan, C. (1998) Immunogold localization of pectin methylesterases in the cortical tissues of flax hypocotyl, *Protoplasma*, **202**, 175-184, doi: 10.1007/BF01282545.
 107. Yu, C. H., Guo, G. Q., Nie, X. W., and Zheng, G. C. (2004) Cytochemical localization of pectinase activity in pollen mother cells of tobacco during meiotic prophase I and its relation to the formation of secondary plasmodesmata and cytoplasmic channels, *Acta Bot. Sin.*, **46**, 1443-1453.
 108. Baluska, F., Samaj, J., Napier, R., and Volkmann, D. (1999) Maize calreticulin localizes preferentially to plasmodesmata in root apex, *Plant J.*, **19**, 481-488, doi: 10.1046/j.1365-313x.1999.00530.x.
 109. Foreman, J., Demidchik, V., Bothwell, J. H. F., Mylona, P., Miedema, H., Torresk, M. A., Linstead, P., Costa, S., Brownlee, C., Jones, J. D. G., Davies, J. M., and Dolan, L. (2003) Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth, *Nature*, **422**, 442-446, doi: 10.1038/nature01485.
 110. Benitez-Alfonso, Y., and Jackson, D. (2009) Redox homeostasis regulates plasmodesmal communication in *Arabidopsis* meristems, *Plant Signal. Behav.*, **4**, 655-659, doi: 10.4161/psb.4.7.8992.
 111. Xu, K., and Nagy, P. D. (2014) Expanding use of multi-origin subcellular membranes by positive-strand RNA viruses during replication, *Curr. Opin. Virol.*, **9**, 119-126, doi: 10.1016/j.coviro.2014.09.015.
 112. Barajas, D., Xu, K., Fernandez de Castro Martin, I., Sasvari, Z., Brandizzi, F., Risco, C., and Nagy, P. D. (2014) Co-opted oxysterol-binding ORP and VAP proteins channel sterols to RNA virus replication sites via membrane contact sites, *PLoS Pathog.*, **10**, e1004388, doi: 10.1371/journal.ppat.1004388.
 113. Pitzalis, N., and Heinlein, M. (2017) The roles of membranes and associated cytoskeleton in plant virus replication and cell-to-cell movement, *J. Exp. Bot.*, **69**, 117-132, doi: 10.1093/jxb/erx334.
 114. Epel, B. L. (2009) Plant viruses spread by diffusion on ER-associated movement-protein-rafts through plasmodesmata gated by viral induced host beta-1,3-glucanases, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **20**, 1074-1081, doi: 10.1016/j.semdev.2009.05.010.
 115. Zavaliev, R., Levy, A., Gera, A., and Epel, B. L. (2013) Subcellular dynamics and role of arabidopsis beta-1,3-glucanases in cell-to-cell movement of tobamoviruses, *Mol. Plant Microbe Interact.*, **26**, 1016-1030, doi: 10.1094/MPMI-03-13-0062-R.

MEMBRANE CONTACTS IN PLASMODESMATA: STRUCTURAL COMPONENTS AND THEIR FUNCTIONS

Review

A. V. Pankratenko¹, A. K. Atabekova¹, S. Y. Morozov^{1,2}, and A. G. Solovyev^{1,2,3,4*}

¹ *Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Virology, 119991 Moscow, Russia*

² *Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119992 Moscow, Russia; E-mail: solovyev@belozersky.msu.ru*

³ *Sechenov First Moscow State Medical University, Institute of Molecular Medicine, 119991 Moscow, Russia*

⁴ *Institute of Agricultural Biotechnology, 127550 Moscow, Russia*

Received February 12, 2020

Revised March 10, 2020

Accepted March 16, 2020

Plasmodesmata (PDs) are channels connecting the cells in plant tissues. In plasmodesmata the cytoplasm, plasma membrane (PM), and endoplasmic reticulum (EPR) of neighboring cells are joined. Through PDs macromolecules, such as proteins and RNA, are transported that ensures the functional unity of plant tissues and transmission of signals necessary for individual development and responses to external signals. Recent studies have shown that PDs include membrane contacts (MCs), which are specialized structures formed with participation of a number of protein components connecting EPR and PMs. In general, as shown mainly for animal cells, membrane contacts between EPR and plasma membranes are involved in the transfer of lipid and protein components between these membrane compartments, as well as in maintaining the structural integrity of EPR and in response to stress. The structure of MCs in plasmodesmata of plants is studied much worse, and at present active studies on the structural elements of PDs responsible for the connection between EPR and plasma membranes within these organelles are just started. In the present review, the structural and functional properties of proteins are considered that are proven or supposed to establish membrane contacts in plasmodesmata. In addition, we discuss the role of cytoskeleton, lipid microdomains within membranes, and cell wall components for the maintenance and remodeling of plasmodesmata MCs during various external biotic and abiotic stresses.

Keywords: plasmodesmata, membrane contacts, endoplasmic reticulum, plasma membrane, membrane microdomains, plasmodesmata proteins, membrane contact proteins, plant viruses