

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОТЕОМА И ЛИПИДОМА МЕМБРАН РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ В ХОДЕ РАЗВИТИЯ

© 2021 г. М. Ф. Шишова^а, *, В. В. Емельянов^а

^аФедеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Санкт-Петербургский государственный университет”, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: mshishova@mail.ru

Поступила в редакцию 28.08.2020 г.

После доработки 25.02.2021 г.

Принята к публикации 28.02.2021 г.

Бурное развитие системной биологии включает в себя усиление таких направлений, как протеомика и липидомика. Они нашли свое развитие в системной биологии растений. Можно отметить возрастающее число работ, посвященных анализу протеомов и липидомов растительных клеток, тканей и целых органов. Достаточно подробно в литературе представлены сведения об особенностях протеома и липида растительных ядер, митохондрий и хлоропластов. Для большинства одномонобренных органоидов растительной клетки, таких как тонопласт, аппарат Гольджи, эндоплазматическая сеть и др., аналогичные исследования существенно ограничены. В обзоре рассматриваются существующие представления о специфичности белковых и липидных спектров мембранных структур растительной клетки, а также представлен анализ немногочисленных данных об их динамическом изменении в ходе развития и при действии стрессовых факторов.

Ключевые слова: протеом, липидом, масс-спектрометрия, рафты, плазмалемма

DOI: 10.31857/S001533032105016X

ВВЕДЕНИЕ

Основополагающая функция мембран эукариотической клетки заключается в компарментализации биохимических и физиологических процессов. В каждом компартменте (органоеде) создаются уникальные условия, характеризующиеся уровнем pH, уникальным спектром макро- и микроэлементов, биологически активных соединений, разнообразными энергетическими ресурсами и др. Обусловлена эта функция особенностями строения биологических мембран. Согласно жидкостно-мозаичной модели, предложенной в 1972 г., мембрана представляет собой липидный бислой, образованный преимущественно фосфолипида-

ми, а также белками разной степени “погружения” в этот липидный матрикс [1, 2].

Многочисленные эмпирические данные свидетельствуют о разнообразии белков в различных мембранных структурах. Мембранные белки, в состав которых входят транспортеры, рецепторы, ферменты и др., участвуют в работе сигнальных и метаболических сетей клетки, тем самым, обеспечивая адаптацию растительных клеток к стрессовым воздействиям и реализацию этапов жизненного цикла. Достаточно долгое время не представлялось возможным охарактеризовать специфичность белковых спектров, свойственных той или иной мембране, не говоря о динамическом изменении белкового профиля при действии различных факторов. Современные технологические подходы позволяют решать такие проблемы с помощью системной биологии, составной частью которой является протеомика, а, вернее, сочетание геномики, транскриптомики и протеомики.

Термин “протеом” был предложен в 1995 г. для обозначения всех белков изучаемого объекта (клетки, ткани, организма и т.д.), кодируемых геномом и синтезируемых в определенных условиях [3]. Секвенирование генома арабидопсиса, а позднее и большого числа других видов растений, имело революционное значение в идентифика-

Сокращения: ГЛ – глицерогликолипиды; ГДГ – глюкуронозилдиацилглицерол; ГФЛ – глицерофосфолипиды; ДАГ – диацилглицерол; ДГДГ – дигалактозилдиацилглицерол; ДФГ – дифосфатидилглицерол; МГДГ – моногалактозилдиацилглицерол; ПМ – плазмалемма, плазматическая мембрана; СПУ – системная приобретённая устойчивость; СФЛ – сфинголипиды; СХДГ – сульфохиновозилдиацилглицерол; ФГ – фосфатидилглицерол; ФИ – фосфатидилинозитол; ФК – фосфатидная кислота; ФС – фосфатидилсерин; ФХ – фосфатидилхолин; ФЭ – фосфатидилэтаноламин; ЭПС – эндоплазматическая сеть; ИМР – интегральные мембранные белки; РМР – периферические мембранные белки; GPI – мембранные белки, заякоренные гликозилфосфатидилинозитолом.

ции белков и аннотации их функций. Протеомный анализ, основанный на таких методах, как 2-D PAGE (двумерный гель-электрофорез в полиакриламиде), ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) и масс-спектрометрия, позволяет определить количество белков интереса в образце, идентифицировать их, выявить первичную структуру и посттрансляционные модификации [4, 5]. Оригинальное сравнение различных подходов к протеомному анализу представлено в статье Мошковского и Пташник [6]. Масштаб одного протеомного исследования в настоящее время может составлять несколько сотен и даже тысяч белков, требующих идентификации и определения их возможной функции.

В связи с бурным развитием протеомики накоплено много результатов, которые легли в основу широкого спектра баз данных, в том числе о первичных белковых последовательностях и их модификациях (фосфорилирование, гликирование и др.), а также о функциональном значении различных белков: протеинкиназ, транскрипционных факторов, различных ферментов, белков межбелкового взаимодействия и др. Недавно эти базы данных были достаточно подробно охарактеризованы Subba с соавт. [7]. Вслед за авторами, следует сделать вывод о необходимости их дальнейшего расширения. Например, ощущается необходимость создания и развития данных о протеоме сигнальных каскадов, сетей вторичного метаболизма, различных мембранных органоидов. В связи с тем, что по результатам ряда исследований из 27000 белков арабидопсиса предположительно 25–30% являются интегральными мембранными белками [8, 9], сравнительный анализ белковых профилей мембран растительных клеток представляет особый интерес.

Не уступает по своему значению и развитие такого направления, как липидомика растений. Сам термин “липидом” был предложен по аналогии с протеомом [10] и подразумевает всю совокупность липидов клетки, ткани, органа или организма. Как и большинство “омиковых” дисциплин, липидомика использует высокотехнологичные и максимально автоматизированные методы экстракции, разделения и анализа липидов, а также биоинформатическую обработку полученных данных. Чаще всего применяют варианты жидкостной хроматографии с последующей масс-спектрометрической детекцией с различными способами ионизации [11–14]. Липиды – это, как правило, невысокомолекулярные, гидрофобные или амфифильные молекулы, хорошо растворимые в неполярных растворителях и образованные в результате карбоанионной конденсации тиоэфиров (производные жирных кислот и поликетиды) и/или карбокатионной полимеризации изопрена (терпеноиды, включая стероиды) [11, 15]. Липидом эукариотической клетки насчитывает от нескольких

сотен до тысяч индивидуальных липидов, формирующих клеточные мембраны и накапливающихся в запасующих структурах [14]. Несмотря на большое разнообразие полученных данных, наши представления о закономерностях динамического изменения липидных профилей в ходе развития и действия стрессовых факторов все еще достаточно ограничены.

Рассмотрим современные представления о белковых и липидных спектрах мембран растительных клеток.

РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О МНОГООБРАЗИИ ПРОТЕОМА И ЛИПИДОМА МЕМБРАННЫХ СТРУКТУР РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ. ИСТОРИЯ, ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ. ПРОТЕОМ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

Начало исследований в области протеома растительных мембран связано с анализом белков ядер, хлоропластов и митохондрий. Выделение этих крупных двумембранных органоидов проводили с помощью низкоскоростного центрифугирования, и последующая идентификация их мембран не вызывала сомнения.

Протеом мембран митохондрий клеток арабидопсиса на сегодняшний день является одним из наиболее охарактеризованных. Еще в работе Vrugite с соавт. [16] были приведены данные о белках митохондриальных мембран. Немногим позже использование различных способов экстракции и последующий LC-MS/MS анализ способствовало идентификации 114 белков, что на 40% увеличило спектр анализируемых белков. В число 80 функционально аннотированных белков митохондрий клеток арабидопсиса вошли белки, участвующие в мембранном транспорте, в том числе электронов, цикле ди- и трикарбоновых кислот, синтезе аминокислот и белков, защите от окислительного стресса и др. [17]. В настоящее время различные методы протеомного анализа позволяют увеличить белковые профили этих органоидов до 1000–1500 белков. Особого внимания заслуживают исследования различных устойчивых внутримембранных белковых комплексов [18]. К ним, безусловно, относятся комплексы дыхательной электрон-транспортной цепи, комплекс альтернативной оксидазы, АТФ-синтазный комплекс, а также целый ряд многокомпонентных транспортеров.

Первоначально в мембранах хлоропластов клеток арабидопсиса было выявлено 242 белка, из которых не менее 40% составляли интегральные мембранные белки. Функции 86 белков оставались неизвестными [19]. Последующий прогресс методических подходов позволил детектировать 1200–1300 белков в хлоропластах того же модель-

ного растения, которые участвуют в реализации фотосинтеза, метаболизма серы и азота, синтеза аминокислот и жирных кислот, гормонов, вторичных метаболитов, пигментов, витаминов и др. Для некоторых из них удалось идентифицировать локализацию — строма, мембрана тилакоидов или люмен. Особого внимания заслуживают исследования крупных функциональных белковых комплексов в мембранах хлоропластов [20]. К их числу можно отнести светособирающие комплексы, белковые комплексы фотосистем, АТФ-синтазу, а также сложно организованные транспортные системы.

Не менее тернистый путь был пройден при изучении протеома ядер. Данные одной из первых работ, проанализировавшей ядра арабидопсиса, указывали на наличие 200 белков, специфичных для этого органоида [21]. Более масштабное исследование привело к идентификации уже 663 белков, функциональная аннотация которых вызвала определенные затруднения [22]. Установлено, что в число 345 ядерных белков входят белки транскрипционного аппарата, шапероны, белки сигнальных систем и др. Особо подчеркивается многообразие ядерных фосфорилированных белков. В последние годы, как и в случае хлоропластов и митохондрий, особое внимание уделяется протеомному анализу не только внешней и внутренней мембран ядра, но и идентификации трансмембранных белковых комплексов ядерной оболочки, включая ядерную пору [23, 24].

Отдавая должное явным успехам в изучении протеома мембран органоидов, окруженных сложной двумембранной структурой, следует отметить, что работа с другими внутриклеточными, так называемыми “легкими” мембранами, изначально характеризовалась значительными сложностями. Получение этих мембран основано на использовании высокоскоростного центрифугирования. Первоначально для разделения плазмалеммы, тонопласта, аппарата Гольджи, ЭПС использовали различные градиенты плотности, приготовленные с использованием сахарозы, сорбитола, перкола и др. [25]. Однако в большинстве случаев такое разделение не могло обеспечить полное отсутствие загрязнения мембранных фракций друг другом. Рассмотрение методических подходов не входит в задачу данного обзора, однако отметим следующее: специфичный метод очистки в настоящее время разработан, пожалуй, только для получения плазмалеммы [26]. Метод двухфазного разделения успешно применяется уже на протяжении более 30 лет. Он основан на использовании двух несмешивающихся растворов полиэтиленгликоля и декстрана, концентрация которых видо- и тканеспецифична. Некоторые подходы были предложены и для получения тонопласта [27–29], однако они не являются общепризнанными и все еще требуют дальнейшего совершен-

ствования. После получения очищенной или обогащенной той или иной мембранной фракцией пробы, исследователи сталкиваются с еще несколькими, не менее важными, проблемами. Они обобщены в работе Ephritikhine с соавт. [30]. Мембранные белки, в отличие от растворимых, плохо разделяются с помощью двумерного электрофореза в полиакриламидном геле (2D-PAGE) из-за физико-химической гетерогенности и значительной гидрофобности. Многие гидрофобные белки не растворяются в буфере для изоэлектрической фокусировки и выпадают в осадок в их изоэлектрической точке. Кроме того, белки большинства мембран отличаются низким содержанием, что зачастую не позволяет их анализировать стандартными методами протеомного анализа. Для преодоления перечисленных трудностей используют дополнительные методы экстракции гидрофобных белков и последующий анализ с помощью масс-спектрометрии.

Быстрое развитие технологических приемов анализа протеома мембран и наличие надежного подхода к выделению плазматической мембраны (ПМ) интенсифицировало изучение протеома именно этой мембраны. Интерес определило также значение плазмалеммы как основного барьера и важнейшего участника транспортной системы клетки. Кроме того, ПМ участвует в рецепции разнообразных химических и физических сигналов, а также в передаче этих сигналов внутрь клетки, тем самым запуская широкий спектр адаптационных и физиологических ответов на клеточном уровне.

В первых работах с применением масс-спектрометрии в составе плазмалеммы клеток арабидопсиса было идентифицировано около 100 белков, большая часть которых не была обнаружена в более ранних протеомных исследованиях [31]. Нанопоточная жидкостная хроматография, сопряженная с масс-спектрометрией (nano-LC/MS/MS), позволила выявить во фракции плазмалеммы клеток листьев *Arabidopsis thaliana* уже 238 белков [32]. Более 100 из них были отнесены к белкам, содержащим один и более трансмембранных доменов. Они были связаны со следующими функциями: транспорт через плазматическую мембрану и везикулярный транспорт внутри клетки, сигнальная трансдукция, ответные реакции на действие стрессоров. Наряду с этим небольшое число белков было ранее ассоциировано с другими клеточными компартментами, что может указывать на некоторое загрязнение фракции ПМ.

Исследования последних лет значительно расширили наши представления о различных группах белков плазмалеммы клеток арабидопсиса [33]. Из-за ограниченности объема данного обзора мы не будем подробно рассматривать все аннотированные белки, а остановимся на основных

группах. Белки ПМ принято подразделять на три основные категории в зависимости от типа мембранной ассоциации: интегральные мембранные белки (ИМР), периферические мембранные белки (РМР) и мембранные белки, заякоренные гликозилфосфатидилинозитолом (ГФИ). ИМР имеют один или несколько трансмембранных доменов. На N-конце присутствует сигнальная последовательность, обеспечивающая “доставку” белков в плазмалемму через ЭПС и аппарат Гольджи. К этой группе, в первую очередь, относятся системы пассивного и активного транспорта ионов. Наиболее многочисленными являются H^+ -АТФаза и аквапорин [34], а также разнообразные транспортеры ионов, включая ионы тяжелых металлов, транспортеры органических молекул, в том числе гормонов, а также белки, выполняющие сигнальную функцию (например, рецептор-подобные киназы (RLK)). Периферические белки не имеют достаточного гидрофобного домена. Они взаимодействуют с плазмалеммой за счет нековалентных белок-белковых взаимодействий или ковалентных липидных модификаций в результате N-миристоилирования, S-пальмитирования или пренилирования. К этой группе относят белки, регулирующие везикулярный трафик, в том числе растительные Rho (ROPs) и SNARE белки (Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptors) [9, 35]. Третья группа – белки, взаимодействующие с плазмалеммой за счет гликозилфосфатидилинозитолом. Представляется, что данная модификация белков происходит в аппарате Гольджи. К этой группе, в основном, относятся ферменты, участвующие в формировании клеточной стенки, включая β -1,3-глюконазы, пектинэстеразы и полигалактуроназы [36]. Особого внимания заслуживают белки, входящие в состав микродоменов плазмалеммы. По липидному составу микродомены (рафты, детергент-устойчивые домены) обогащены сфинголипидами и стеринами, что создает более упорядоченные участки по сравнению с окружающим слоем, образованным преимущественно фосфолипидами [37]. Липидная составляющая рафтов будет рассмотрена ниже. Обратимся к белкам, входящим в эти домены. Ряд исследований позволил выявить маркерные для рафтов белки. К ним относят KAT1 (K^+ -канал), PIP2;1 (аквапорин), PIN1, PIN2 и некоторые ABCB (транспортеры ауксина), реморины (группа белков иммунного ответа) и др. [38]. Следует отметить, что, несмотря на физико-химические свойства этих доменов, по своему составу рафты все же являются динамическими структурами, состав которых сильно зависит от условий и изменяется во времени. К сожалению, полностью представить соотношение различных по функциональной активности групп белков (транспортеров, ферментов, рецепторов и др.) плазмалеммы до

сих пор достаточно сложно, так как все еще велика доля неохарактеризованных белков.

Протеомные исследования проводятся и для других одномембранных органоидов. Первые характерные белковые профили для вакуолярной мембраны (тонопласта) были получены практически одновременно с таковыми для плазмалеммы, но авторы пришли к выводу, что загрязнение мембранных препаратов было значительным. Использование культуры клеток арабидопсиса и последующее получение протопластов позволило в значительной степени улучшить ситуацию [39]. Всего было выявлено 263 белка, из которых 46, предположительно, имели по два трансмембранных домена, остальные 177 имели один трансмембранный домен или не имели его. По базе данных были аннотированы 129 белков. В эту группу входили белки V- H^+ -АТФазы, пирофосфатазы, транспортеры Zn^{2+} , Cd^{2+} , сахарозы, аминокислот и др. Функции 21 белка были связаны с системами деградации других белков. К сожалению, 34 белка так и остались неохарактеризованными, а небольшое число белков было аннотировано ранее как компоненты других мембран. Более полная характеристика протеома тонопласта культуры клеток арабидопсиса была приведена в работе Jaquinod с соавт. [40]. Согласно проведенному анализу идентифицированные белки участвуют в транспорте ионов и метаболитов (26%), стрессовых реакциях (9%), передаче сигналов (7%) и метаболизме (6%), а также обеспечивают такие вакуолярные функции, как гидролиз белков и сахаров.

Первые данные о протеоме аппарата Гольджи были получены в 2000-х гг. [41]. Однако невозможность корректно изолировать мембраны этого органоида ставит полученные в указанный период результаты под некоторое сомнение. Тем не менее, интерес к аппарату Гольджи очень велик, особенно в связи с протекающими в этом органоиде синтетическими процессами, обеспечивающими строительство клеточной стенки растений. Относительно недавно был предложен новый подход: были применены последовательно очистка в градиенте плотности, а затем метод разделения на основе поверхностного заряда [42]. Это позволило получить мембранную фракцию достаточно высокой степени очистки. Последующий протеомный анализ позволил идентифицировать 491 белок. К ним отнесены 64 белка, загрязняющих фракции митохондриальных мембран (28 белков), ЭПС (15 белков) и цитоплазмы (14 белков), а также шесть белков, ранее идентифицированных как пластидные, ядерные и пероксисомные. Более 50 белков (56) функционально были отнесены к системе белкового синтеза. Из оставшихся 371 белка 20% отнесены к биосинтезу полисахаридов матрикса клеточной стенки, 12% – к транспортерам, 12% – к трансферазам, еще 12% были связа-

ны с секреторными процессами. Выявлена группа белков (55 белков, 12%), свойственных другим мембранам, но не являющихся показателем загрязнения мембран. К этой группе относятся, например, целлюлозосинтаза и V-АТФаза. Предположительно, это “транзитные” белки аппарата Гольджи.

К сожалению, исследований, посвященных протеомному анализу эндоплазматической сети, очень мало. Тем не менее, 182 белка относят к этому органюиду [41]. Тридцать из них остались неохарактеризованными. Остальные белки участвуют в фолдинге и модификации синтезируемых белков, а также вовлечены в ряд метаболических процессов. К белкам первой группы были отнесены два гомолога Sec63, пять гомологов пептидаз, шапероны BiP, HSP90, кальнексин, кальретикулин, девять протеин-дисульфид-изомераз и пептидил-пролил-изомеразы. Были идентифицированы белки комплекса олигосахарид-трансферазы (гомологи рибофорина I, рибофорин II, два гомолога STT3, OST3, OST6, OST48 и DAD1), которые отвечают за перенос олигосахарида в процессе N-связанного гликозилирования. В группу “метаболических” белков вошли 18 цитохромов P450, НАДФН-цитохром P450-редуктаза, НАДН-цитохром b5-редуктаза, два белка цитохрома b5 и 11 белков, участвующих в метаболизме липидов. Следует упомянуть еще одну группу белков, участвующих в ионном гомеостазе ЭПС, включая представителей семейства Ca²⁺-АТФаз, а также белки, опосредующие обмен между ЭПС и аппаратом Гольджи (AtSEC12, COPII, гомолог RHD3 и др.).

Развитие технологий секвенирования позволило расширить протеомные исследования и на другие растения, в том числе на злаки (рис, кукуруза, овес и рожь) и двудольные растения (табак, соя и др.). Были проанализированы различные органы этих растений и полученные из них культуры клеток [43]. Очень интересны результаты работы, в которой проведен сравнительный анализ не только белковых профилей плазмалеммы овса и ржи, но и белкового состава нанодоменов. С использованием нано-LC-MS/MS-анализа было идентифицировано 219 белков у овса и 213 белков у ржи. При этом 56% в первом случае и 47% во втором составили белки, специфичные для нанодоменов овса и ржи, соответственно. Авторам удалось достаточно подробно охарактеризовать соотношение различных групп функционально значимых белков в составе плазмалеммы/нанодоменов разных представителей злаков [44].

Таким образом, увеличивается число исследований, характеризующих белковые спектры мембран растительных организмов, представляющих интерес с точки зрения агропроизводства и биотехнологии. Наряду с этим имеются данные и о белковых профилях мембран, на первый взгляд, экзотических растений. Например, были исследованы

белковые профили плазмалеммы и тонопласта клеток листьев *Avicennia officinalis*, произрастающих в экваториальных мангровых болотах Сингапура. Даже при условии несеквенированного генома было идентифицировано 254 белка плазматической мембраны и 165 белков тонопласта [45]. Несколько меньше белков удалось выявить в протеоме плазмалеммы *Menta arvensis* – 122 белка, из которых лишь 21 был идентифицирован [46].

Интересные данные о тканеспецифичности белковых спектров плазмалеммы получены на растениях тополя [47]. Относительно большая часть (42%) из 956 белков обнаружена в плазматических мембранах клеток всех трех протестированных тканей (паренхима листа, ксилема, камбий/флоэма) и только 10–11% были уникальными для конкретной ткани. Дальнейший анализ показал, что 213 интегральных мембранных белков можно разделить по функциям на “транспортеры”, “рецепторы”, “клеточная стенка и метаболизм углеводов”, “перенос через мембрану”, “другие”, “неизвестные” и “вероятные загрязнители”. Более 70% транспортеров самой большой группы интегральных белков были детектированы в плазмалемме клеток листа, 32% – в мембранах всех трех тканей и только 25% были обнаружены исключительно в плазматических мембранах клеток ксилемы и/или камбия/флоэмы. Удивительно, но плазматические мембраны, выделенные из камбия/флоэмы, имели самую высокую долю рецепторов. Более 70% белков, участвующих в формировании клеточной стенки и метаболизме углеводов, и все белки, участвующие в мембранном переносе, были идентифицированы в плазматических мембранах клеток ксилемы. Очень немногие белки были общими между плазмалеммой мезофилла и двумя другими тканями (2–4% от общего количества). При этом в плазматической мембране клеток ксилемы и камбия/флоэмы были идентифицированы белки, не обнаруженные в плазматических мембранах клеток листа (21% от общего количества).

Следует отметить еще одно исследование, в котором проведено сравнение протеомов корней, этиолированных и зеленых листьев, растущих листовых пластинок и цветков растений риса [48]. Наряду с 511 белками, встречающимися во всех пяти анализируемых органах, каждый из органов имел ряд специфичных белков: 270 – для корня; 132 – для этиолированного листа; 359 – для зеленого листа; 146 – для развивающегося листа и 149 – для цветка. Установлено, что плазмалемма корней значительно отличалась по белковому профилю от такового у листа, независимо от того, развивался ли он на свету или в темноте. Белковый состав плазмалеммы клеток развивающейся листовой пластинки был ближе к таковому у цветка, но не зеленого листа. Особый интерес вызвали данные о том, что ПМ корней обогащены белками-

транспортерами по сравнению с плазмалеммой клеток листа, а также то, что плазматическая мембрана цветка отличалась большей насыщенностью белков, сопряженных с сигнальной функцией клетки по сравнению с протеомом плазмалеммы клеток зеленого листа.

Таким образом, данные последнего десятилетия указывают на специфичность белковых профилей и между тканями одного растения, и между разными растениями, что на новом технологическом уровне указывает на функциональную значимость белков в составе клеточных мембран. Не вызывает сомнения, что интенсивное развитие секвенирования, а также технологических приемов выделения и детектирования мембранных белков, лягут в основу дальнейшего продолжения исследований в области протеома мембранных органоидов.

ЛИПИДОМ РАСТИТЕЛЬНЫХ МЕМБРАН

Липидом мембран состоит преимущественно из полярных липидов. Их амфифильная природа позволяет им ассоциировать в двухслойную мембранную структуру, а также выполнять множество других функций. Именно полярные липиды составляют основу липидного бислоя. Массовое соотношение липидов к белкам в мембране растительной клетки близко к 1:1, однако, если учитывать не абсолютное содержание, а усредненные молекулярные массы липидов и белков, то это соотношение будет варьировать в диапазоне от 50 : 1 до 100 : 1 [49]. Большинство мембранных липидов представлено глицерофосфолипидами (ГФЛ), наиболее распространенными из которых являются фосфатидная кислота (ФК), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилинозитол (ФИ), диацилглицерол (ДАГ) и соответствующие им лизоформы. Реже, особенно во внутренних мембранах клетки, встречаются фосфатидилглицерол (ФГ) и дифосфатидилглицерол, или кардиолипин (ДФГ). Последний служит маркерным липидом внутренних мембран митохондрий, где он стабилизирует белки электрон-транспортной цепи [50]. ФХ составляет около 50% мембранных фосфолипидов, а вместе с ФЭ их доля увеличивается до 70–80% [49]. Жирнокислотный состав ГФЛ включает С16–С24 кислоты как насыщенного, так и ненасыщенного ряда с преобладанием С16 и С18 кислот [51]. Отличительной особенностью липидома растений является практически полное отсутствие плазмалогенов – ГФЛ, у которых в первом положении глицерина вместо остатка жирной кислоты находится остаток спирта с длинной алифатической цепью, связанный простой эфирной связью. Плазмалогены широко распространены у животных, как среди беспозвоночных, так и позвоночных, включая и человека [14].

Ещё одной характерной чертой липидома растений является присутствие особой группы глицерогликолипидов (ГГЛ) – галактолипидов. Эти липиды образуют мембрану пластид и представлены моногалактозилдиацилглицеролом (МГДГ), ди-галактозилдиацилглицеролом (ДГДГ), сульфохинозидилдиацилглицеролом (сульфолипид, СХДГ) [52], а также глюконозилдиацилглицеролом (ГДГ) [53]. Помимо высших растений эти липиды обнаружены в разнообразных эукариотических водорослях и оксифотобактериях [14]. В жирнокислотном компоненте галактолипидов растений доминируют С16:0, С16:3 и С18:3 кислоты [54].

Сфинголипиды (СФЛ) – важнейшая группа полярных липидов, которые могут составлять до 10% от общего уровня липидов в растениях [51]. Эта группа липидов длительное время оставалась слабоизученной, что связано с трудностями экстракции и последующего анализа [11, 13, 55]. СФЛ являются производными длинноцепочечных алифатических сфингоидных оснований (аминоспиртов). Сфинголипиды растений отличаются значительным разнообразием сфингоидных оснований. Помимо сфингозина и сфинганина, наиболее характерных для животных, у растений обнаруживается фитосфингозин и другие производные, различающиеся по наличию, количеству и изомерии двойных связей, а также числу гидроксигрупп [49, 56]. Жирнокислотная компонента, прикрепляющаяся к сфингоидному основанию амидной связью, представлена С14–С26 кислотами, преимущественно длинноцепочечными, насыщенными и часто гидроксильными в α -положении [49, 56]. Преобладает насыщенная α -гидрокси-С24 (α -гидрокси-лигноцериновая) кислота [56]. Помимо сфингоидных оснований к ключевым группам растительных СФЛ относятся церамиды, глюкозилцерамиды (глицосфинголипиды) и гликозилинозитолфосфоцерамиды (фосфосфинголипиды). В клетках листьев арабидопсиса на их долю приходится по 0,5, 2, 34 и 64% от общего содержания СФЛ, соответственно [51]. Сфингомиелин, главный сфинголипид животных, у растений не встречается.

Еще одна важнейшая группа мембранных липидов представлена стеринами, которые относятся к производным изопрена. Характерной особенностью мембран растений является многообразие фитостеринов – более 200 видов [57]. Так, из проростков кукурузы выделено более 60 индивидуальных стеринных и пентациклических тритерпенов [51]. Главными стеринами в липидомах высших растений являются β -ситостерин, кампестерин и стигмастерин. В клетках арабидопсиса накапливается до 64, 11 и 6% этих стеринных, соответственно [57]. Весьма любопытно, что растения могут синтезировать и холестерин, содержание которого может достигать 10–20% от общего уровня стеринных, особенно в мембранах клеток корней злаков

[57]. Чаще всего фитостерины находятся в мембранах в свободном виде, однако они могут быть гликозилированы глюкозой, маннозой, ксилозой или галактозой с образованием стерилгликозидов, которые, в свою очередь, могут быть ацилированы С16-С18 кислотами [49, 51, 57]. Эфиры стериннов с жирными кислотами также можно обнаружить в растениях, но они редко входят в состав мембран (как у цветной капусты), а обнаруживаются преимущественно в липидных каплях наряду с триацилглицеридами и другими неполярными липидами [49].

Липидный состав клеточных мембран зависит от типа клеток, возраста, стадии развития и действия факторов окружающей среды. Большое значение имеет видовая принадлежность, хотя даже у представителей одного вида возможны значительные количественные отличия [58]. Липидом мембран лучше всего изучен у плазматической мембраны и двумембранных органоидов. В фотосинтезирующих клетках растений около 70–80% мембранных липидов приходится на долю хлоропластов, при этом 80–90% полярных липидов содержится во внутренней мембране, преимущественно в мембране тилакоидов [12, 58].

Мембраны пластидной оболочки не содержат хлорофилла, состоят из глицеролипидов (80%) и свободных стериннов (до 1%). В наружной мембране пластиды на долю ГФЛ приходится 35–50%, преобладает ФХ (30–35%, в основном, в наружном монослое) и ФГ (10%), ГГЛ содержится до 50–60% (ДГДГ – до 30%, МГДГ – до 17% и СХДГ 6%). Внутренняя мембрана пластидной оболочки состоит преимущественно из ГГЛ (85–90%, с преобладанием МГДГ, 50–55%). Содержание ГФЛ не превышает 15%, лидирует ФГ (до 10%) [52, 58]. Тилакоидная мембрана также образована в основном из ГГЛ и имеет асимметричное строение: внешний монослой обогащён МГДГ и ФГ, а ДГДГ и СХДГ локализованы преимущественно во внутреннем слое, обращённом в сторону грани [12, 58]. Следует уточнить, что МГДГ не способны самостоятельно образовывать бислои. Тем не менее, роль МГДГ трудно переоценить, т.к. соотношение МГДГ к ДГДГ определяет формирование бислоя, взаимодействие липидов с белками, а также межбелковые взаимодействия в тилакоидных мембранах. Примером последнего может служить энергетическое взаимодействие между светособирающим комплексом и ФС II. Еще одно значение МГДГ заключается во взаимодействии с пигментами виолоксантинового цикла, выполняющими защиту от фотоокисления [59]. ФЭ и ФС полностью отсутствуют в пластидах [58]. Галактолипиды пластид в условиях фосфорного голодания могут замещать фосфолипиды в других мембранах клетки и появляться в плазмалемме, тонопласте [51], ЭПС и мембранах митохондрий [54]. Главным замещающим ГГЛ является ДГДГ, который

в цитозольном монослое плазмалеммы может достигать до 1/3 всех липидов при дефиците фосфата, тогда как в наружном монослое фосфолипиды замещаются ацилированными стерилгликозидами [49, 60].

Более 80% липидов мембран митохондрий приходится на долю ГФЛ. Содержание свободных стериннов достигает 12%, а их гликозидов 1–2% [58]. Главными ГФЛ наружной мембраны митохондрии являются ФХ (до 60%), ФЭ (25–30%) и ФИ (15–25%). Внутренняя мембрана также содержит ФХ, ФЭ (по 40%) и ДФГ (10–15%) [58, 61]. ДФГ специфичен для внутренней мембраны митохондрии. Его доля в других внутриклеточных мембранах (внешние мембраны митохондрий и пластид, мембрана пероксисом, микросомальная фракция) не превышает 2–3%, а в тонопласте ДФГ не детектируется совсем [61, 62]. ФС также не обнаруживается в митохондриях у растений [58, 61]. В составе ГФЛ митохондриальных мембран преобладают остатки жирных кислот с длиной цепи С16:0, С18:2 и С18:3 [54]. Такое своеобразие липидного спектра в мембранах митохондрий может быть обусловлено тем, что митохондрии являются полуавтономными органоидами в отношении биосинтеза липидов. ГГЛ они получают от пластид, ДАГ и ГФЛ от ЭПС, и далее синтезируют собственные ФГ и ДФГ [54, 63]. Кроме того, митохондрии обладают собственным биосинтезом жирных кислот, который отличается от пластидного и начинается с малоната [54].

Теперь рассмотрим данные о липидоме одно-мембранных органоидов. Наибольшим разнообразием липидов, принимающих участие в ее формировании, отличается мембрана ЭПС. В ее составе представлены ГФЛ (более 80%), среди которых доминируют ФХ (35–65%), ФЭ (10–25%) и ФИ (3–18%). Присутствуют стеринны (3–14% свободных и 1–4% связанных, стерилгликозидов и ацилстерилгликозидов), а также сфинголипиды (2–8%, главным образом, глюкозилцерамиды) [58, 64]. Характерной особенностью мембраны ЭПС является относительно большое содержание ФК (0.5–7%) и лизофосфолипидов (0.8–1.7%), что связано с биосинтетической и транспортной ролью этого органоида в обеспечении липидного обмена клетки [64]. Кроме того, ЭПС содержит до 0.5–4% липидов, характерных для мембран пластид (МГДГ, ДГДГ) и митохондрий (ДФГ) [58]. Такое многообразие, возможно, обусловлено ролью ЭПС в синтезе липидов.

Подробное рассмотрение биосинтеза липидов выходит за рамки настоящего обзора. Однако заметим, что синтез жирных кислот протекает в пластидах, где синтезируются С16-С18 кислоты. Далее они транспортируются в мембрану ЭПС или вступают в прокариотический путь непосредственно во внутренней мембране пластиды, где

синтезируются ГГЛ и ГФЛ пластид [54]. Мембраны ЭПС являются основным местом биогенеза липидов в растительной клетке: здесь осуществляется эукариотический путь биосинтеза ГФЛ, удлиняются жирные кислоты, синтезируются триацглицериды, стеринны, сфингоидные основания, керамиды и глюкозилкерамиды [54, 56, 58]. Инозитолфосфоцерамиды, гликозилинозитолфосфоцерамиды и сложные сфинголипиды с длинной олигосахаридной головой синтезируются в аппарате Гольджи [65].

Глиоксисомы – органоиды, специализированные для катаболизма липидов, поэтому их мембраны кроме ГФЛ (25–50%, преобладают ФХ, ФЭ, ФГ и ФИ) содержат большое количество свободных жирных кислот (до 30–40%) [58]. Считается, что сами глиоксисомы фосфолипиды не синтезируют, а получают их из ЭПС [12, 58].

Тонoplast, или вакуолярная мембрана, состоит из ГФЛ (40–60%), свободных стериннов (5–20%), связанных стериннов (10–25%) и гликофинголипидов (10–20%) [27, 58, 62]. ФХ (30–50%) и ФЭ (24–50%) доминируют среди ГФЛ. Третья по численности группа ГФЛ представлена ФИ (7–15%), которые чрезвычайно важны для биогенеза вакуолей [62]. В составе липидов тонoplastа преобладают остатки С16:0, С18:1 и С18:2 жирных кислот [27]. В вакуолярной мембране обнаружены липид-белковые микродомены (рафты), обогащенные сфинголипидами и стеринами [27]. Именно в этих рафтах преимущественно локализована Н⁺-АТФаза V-типа [66]. Также как и в других внутренних мембранах, в тонoplastе присутствуют пластидные ГГЛ (1–15%) [27, 58, 62].

Плазматическая мембрана также отличается разнообразием составляющих ее липидов. Неотъемлемой чертой ПМ растений является наибольшее содержание сфинголипидов и стериннов по сравнению с внутриклеточными мембранами, а также значительная вариабельность соотношения между ГФЛ и другими мембранными липидами в зависимости от типа клеток, органной и систематической принадлежности [49, 57]. ГФЛ составляют 30–50%, СФЛ – 5–40% и стеринны – 20–50% от общего пула мембранных липидов ПМ [49, 58]. Среди ГФЛ, как и в других мембранах, преобладают ФХ (25–45%), ФЭ (30–40%). Остальные ГФЛ представлены ФС (3–12%), ФГ (2–15%), ФИ (2–11%) и ФК (0–20%) [49, 58, 61]. ПМ содержит максимальное количество ФС среди мембран растительной клетки, особенно у лука-порей. Также в ПМ содержится минорная фракция производных ФИ, полифосфоинозитиды или фосфатидилинозитол-фосфаты, которые участвуют в трансдукции сигналов, будучи предшественниками инозитолфосфатов [51]. В плазмалемме детектируется небольшое содержание ГГЛ пластид (0–2%) [58]. ГФЛ ПМ клеток побега

преимущественно ацилированы С16:0, С18:2 и С18:3 кислотами, но также в них встречаются остатки моно-, ди- и триеновых жирных кислот с длиной цепи С20–С22 [49, 54]. В фосфолипидах ПМ клеток корней преобладают остатки С16:0 и С18:2 кислот [49], причем содержание насыщенных ацилов равно или вдвое меньше содержания ненасыщенных и в корнях, и в побегах. Весьма интересно, что ФИ, как и большинство других ГФЛ, этерифицирован преимущественно полиеновыми жирными кислотами (50–70%), а жирнокислотный состав полифосфоинозитидов отличается большей насыщенностью (10–20%) [67].

Сфинголипиды плазмалеммы представлены гликозилинозитолфосфоцерамидами (25–30% от общего уровня липидов ПМ) и глюкозилкерамидами (2–3%) [68]. Стеринны ПМ представлены в первую очередь свободными формами (70–80% от уровня стериннов). Из конъюгированных стериннов ацилстерилгликозиды преобладают в ПМ клеточного листа [49, 68]. Именно сфинголипиды и стеринны ПМ участвуют в формировании липид-белковых рафтов. Их содержание в рафтах достигает 70 и 20%, соответственно, тогда как доля глицеролипидов не превышает 10%, а их жирнокислотный компонент представлен преимущественно насыщенными радикалами [68]. Одна молекула сфинголипида взаимодействует с тремя молекулами стигмастерина, формируя стабильный комплекс, который используется для построения рафта [51].

Следует отметить еще одну особенность в организации ПМ – различия в составе внешнего и внутреннего слоев. Внешний слой обогащен ФХ, СФЛ и стеринами, а ФС, ФИ, включая полифосфоинозитиды, и ДГДГ встречаются в ПМ только во внутреннем слое [60, 68]. Асимметрия мембраны свойственна не только плазмалемме, но и аппарату Гольджи, а в ЭПС она не обнаружена. Причины возникновения такого неравенства пока не выяснены. Изучение этого процесса во многом осложнено высокой скоростью флип-флоп перемещения липидов в мембране [69]. Одна из особенностей цитоплазматического (внутреннего) слоя ПМ состоит в ее негативном заряде (см. [51]). Отрицательно заряженные фосфолипиды, в первую очередь полифосфоинозитиды, создают электрический градиент, который может направлять процессы эндоцитоза. Электростатические свойства приобретают сигнальную функцию, т.к. могут определять полярность расположения в плазмалемме целого ряда белков, например, регулятора полярного транспорта фитогормона ауксина (PINOID), белковых компонентов рецептора барассиностероидов и др. Наличие отрицательного заряда и градиент рН между слоями плазмалеммы могут играть роль и в формировании особо организованных доменов – рафтов. Рафты также устроены асимметрично. Наружный слой рафта обогащен стеринами и гликозилинозитолфосфо-

церамидами с длинными три- гептагликозидными головками, а внутренний содержит больше ГФЛ, включая основную массу полифосфоинозитидов ПМ [37, 68].

Интересные результаты получены при изучении липидома клеточной мембраны в области плазмалеммы [70]. ПМ плазмалеммы была обогащена стеринами и сфинголипидами с длинноцепочечными жирными кислотами, а ГФЛ из этой мембраны были ацилированы менее ненасыщенными, чем в остальной ПМ, жирнокислотными радикалами. Таким образом, состав клеточной мембраны плазмалеммы сходен по своему составу с липидным рафтом.

Показано, что липиды в мембранах могут существовать в различных фазовых состояниях, которые зависят от структуры самого липида и от окружения. Липидомные исследования, проведенные на эукариотических клетках животных свидетельствуют, что липид-липидные и липид-белковые взаимодействия играют огромную роль в определении функциональной активности мембран, определяют активность ассоциированных ферментов и транспортеров. Фазовое состояние липидов может определять латеральную гетерогенность мембранных слоев. Липид-липидное взаимодействие фосфолипидов и стеринами является основой образования рафтов, которые изначально были ассоциированы с котранспортом мембранных белков и сфинголипидов из транс-доменов аппарата Гольджи к плазмалемме [69]. Липидный состав рафтов определяется уже в аппарате Гольджи. Там же в этот липидный домен встраиваются соответствующие белки. Гидрофобные взаимодействия между липидами и соответствующими доменами белков рассматриваются в качестве главной “движущей” силы самоорганизации этих доменов. Данные последних исследований показывают, что конформационные изменения трансмембранных белков (структура трансмембранных доменов, длина и фолдинг цитоплазматических доменов) имеют значение для последующей организации рафта и его доставки к плазмалемме. Тем самым, в составе фосфолипидного матрикса формируются функциональные домены. Для изучения состава рафтов используют различные детергенты, поэтому рафты еще называют детергент-устойчивыми доменами. Размеры рафтов также в значительной степени варьируют (от микро- до нанометрового диапазона), что удалось показать с применением микроскопии высокой степени разрешения [69]. Достаточно долгое время считалось, что именно липиды являются рафтообразующим компонентом. Однако последние данные указывают, что роль белков, входящих в состав рафтов, не столь пассивна. Например, толщина липидного слоя может определяться длиной гидрофобного домена белка. Кроме того, увеличение числа трансмембранных белковых доменов приводит к увеличе-

нию сродства стерина к данному участку фосфолипидного бислоя. Показано, что существуют маркерные для рафтов белки. Примером таких белков являются реморины (REM) [71]. Они кодируются мультигенным семейством, состоящим из шести групп. Значение белков этой группы многообразно. Очевидно, что REM участвуют во взаимодействии фитогормонов, в развитии клубеньков, замедлении развития патогенной инфекции, формировании плазмалеммы и т.д. В контексте данного обзора нас будет интересовать группа одна REM, в составе которой имеется домен, получивший название REM-CA (REM C-terminal Anchor). Использование мутантов по этому белку позволило доказать его необходимость в организации рафтов (нанодоменов размером 100 нм) в составе плазмалеммы клеток листьев табака. Продемонстрировано, что REM-CA обеспечивает ассоциацию белка с внутренним слоем плазмалеммы. Показано изменение конформации REM-CA домена в присутствии стерина и фосфатидилинозитол-4-фосфатов (ФИФ). Предполагается, что наличие высоконасыщенных ацильных групп в составе последних (30–60%) обеспечивает преимущественное взаимодействие со стеринами, а, следовательно, рассматривается в качестве “движущей силы” образования нанодоменов во внутреннем слое плазмалеммы [71].

Представленные данные свидетельствуют о большом разнообразии липидов в составе мембран эукариотических растительных клеток, обеспечивающимся работой ферментов, в кодировании которых задействовано не менее 5% генома [72].

ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПРОТЕОМНЫХ И ЛИПИДОМНЫХ ПРОФИЛЯХ

Приведенные выше данные однозначно свидетельствуют о широком разнообразии белкового и липидного состава мембран растительной клетки. Общепринятым является заключение о том, что эти различия определяют структуру и, главное, функцию каждой из клеточных мембран. Ряд данных указывает на то, что мембраны клеток являются очень динамичными структурами. В связи с этим, особый интерес представляют анализ изменения белковых и липидных профилей мембранных органоидов при действии различных стрессовых факторов или в процессе развития. Остановимся на изменениях, происходящих в одномембранных органоидах, сведения о которых немногочисленны и не систематизированы.

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОТЕОМОВ МЕМБРАН ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ И В ХОДЕ РАЗВИТИЯ

Рассмотрим исследования последних лет, в которых убедительно показаны изменения, детектируемые в белковых профилях при действии таких абиотических стрессовых факторов, как повышение концентрации солей, в том числе тяжелых металлов, снижение интенсивности водного режима, повышение и понижение температуры и др. Сдвиги в составе протеома мембран были установлены и при взаимодействии высших растений с симбиотическими и патогенными микроорганизмами. Чаще всего данные исследования были сфокусированы на анализе ПМ растительных клеток.

Эффект засоления на растения риса приводил к появлению в составе плазмалеммы 8 [73] или 18 белков [74], что свидетельствует о протекании стресс-индуцируемых изменений. В более позднем исследовании, проведенном на ПМ клеток корней овса двух сортов, различающихся по устойчивости к засолению, было показано, что в белковых профилях плазмалеммы было идентифицировано 479 белков [75]. Для 438 из них было предсказано наличие одного или более трансмембранных доменов. Предположительно эти белки могли участвовать в выполнении следующих функций: первичный и вторичный метаболизм, энергетический обмен, трансмембранный и везикулярный транспорт, структурные, защитные, сигнальные и др. Последующий анализ позволил выявить, что содержание 182 белков значительно изменилось, и, на основании характера этих изменений, было выделено пять кластеров. Наибольший интерес вызвал пятый кластер, насчитывающий 24 белка, отличавшихся наиболее сильным стресс-индуцируемым накоплением у более устойчивого к засолению сорта. Функционально эти белки могут выполнять метаболическую, энергетическую, запасающую и транспортную функции. Трем белкам этой группы, отвечающим за связывание стероидов или синтез фосфолипидов, было уделено особое внимание. Авторы доказали участие этих белков в регуляции развития корня и повышении устойчивости при действии засоления.

Ряд изменений в белковом профиле ПМ был отмечен при действии пониженных температур (см. обзор [76]). В экспериментах с растениями арабидопсиса было выявлено 38 белков, включая белки “раннего” ответа на дегидрирование (ERD10 и ERD14) и растительный синаптоагмин 1 (SYT1), предположительно участвующий в репарации мембраны после холодового повреждения. Определенные изменения, вызванные понижением температуры, были показаны и в составе микродоменов плазмалеммы. Эти изменения затрагивали Р-тип АТФаз, аквапорины, тубулины и белки, связан-

ные с клатрин-зависимым эндоцитозом. Последнее может свидетельствовать об активных “заменах” в составе плазмалеммы.

Особого внимания заслуживает исследование динамических изменений, происходящих в белковых профилях ПМ клеток листьев арабидопсиса, вызванных не только краткосрочным замораживанием (-2°C) после различной по длительности акклимации, но и последующим возвращением к исходным температурным условиям (23°C – деакклимация) [77]. Обработка низкими температурами приводила к накоплению 90 белков и уменьшению 200 белков в составе плазмалеммы. Последнее соответствует общему снижению ростовой и метаболической активности клеток при понижении температуры. В числе стресс-индуцированных белков выделяли три функционально значимые группы: транспортеры, белки метаболизма и белки, связанные с поддержанием структуры. Остальные были отнесены к четвертой неидентифицированной группе. Следует заметить, что максимальные изменения белковых профилей достигались за разные временные интервалы от начала акклимации, что свидетельствовало о сложных путях достижения адаптации к холодному стрессу. Было показано, что абсолютное большинство динамически изменяющихся белков возвращалось к исходному уровню в ходе деакклимации.

Еще один повреждающий фактор – это затопление, приводящее к изменению газового состава среды, а главное – к снижению доступности кислорода для корневой системы. На проростках сои анализ протеомов субклеточных мембран выявил белки, число которых меняется при недостатке кислорода [78]. Отмечая важность плазматической мембраны в адаптации растений к недостатку кислорода, ее участия в регуляции цитоплазматического pH и уровня Ca^{2+} , а также тесную связь с процессами, происходящими в клеточной стенке, проведенное исследование выявило роль изменения таких белков, как аквапорины, белки теплового шока 70, ряд белков ионного гомеостаза и сигнальных систем. Авторы привели пример изменений, происходивших с протестированными 117 или 212 белками (в зависимости от способа выделения) мембран эндоплазматической сети. Было высказано предположение о том, что затопление преимущественно регулирует синтез и гликозилирование белков ЭПС клеток корней сои. Однако эти данные, по-видимому, требуют дальнейшего анализа [78].

Наряду с абиотическими факторами на белковый профиль клеточных мембран могут оказывать влияние и биотические воздействия. Например, при развитии заражения, вызванного фитопатогенным грибом *Alternaria alternata*, в протеоме плазмалеммы мяты наблюдались изменения в со-

держании 21 белка. Они были подразделены на функциональные группы: белки, участвующие в защитных реакциях, ассоциированные с углеводным и энергетическим обменом, а также обеспечивающие транспортные процессы [46].

Пожалуй, самое масштабное исследование динамических изменений, лежащих в основе фитоиммунитета, было проведено на плазмалемме клеток арабидопсиса [79]. Всего было идентифицировано 2300 белков. Проведенный анализ показал, что 20% белков, аккумулялирующихся при активации рецептора RPS2 растительно-бактериального взаимодействия, включали в себя белки плазмалеммы, участвующие в кальциевом и липидном сигналинге, мембранном транспорте, первичном и вторичном метаболизме, везикулярном транспорте, редокс-гомеостазе, фосфорилировании и др. [79].

Не менее значимые изменения выявлены и при взаимодействии люцерны усеченной и грибом арбускулярной микоризы. Недавно было проведено первое крупное сравнение белковых профилей плазмалеммы клеток корней микоризованных и немикоризованных растений [80]. В ходе микоризации выявлено динамическое изменение содержания 82 белков. Треть этих белков была ассоциирована с детергент-устойчивыми микродоменами плазмалеммы. Функционально ряд этих белков связан с углеводным и липидным обменом, а также участвует в реализации обменных процессов между растением-хозяином и симбиотическим микоризным грибом.

Хорошо известно, что бобовые растения вступают в тесные симбиотические отношения с азотфиксирующими бактериями. Анализ изменений в белковых профилях плазмалеммы были проведены на модельном растении — *Lotus japonicus* [81]. Анализ перибактероидной мембраны показал наличие 94 идентифицированных белков. К их числу относится большая группа транспортеров сахаров, пептидов, серы и др., аквапорины, несколько рецептор-подобных киназ, ряд белков, участвующих в защитных реакциях и др. Полученные данные свидетельствуют об изменении/усилении обменных и сигнальных процессов при формировании азотфиксирующего симбиоза, что отражается в динамических изменениях белковых профилей перибактероидной мембраны.

Рассмотрим теперь, что известно об изменении протеома мембран в ходе развития. К сожалению, исследования в этой области очень малочисленны. Неотъемлемым этапом жизненного цикла большинства растительных клеток является уникальный процесс роста растяжением. Его можно рассматривать как этап дифференциации клеток, в ходе которого длина клетки увеличивается многократно. У высших растений длина клеток колеблется в среднем между 10 и 100 мкм, однако

может достигать и нескольких сантиметров. Одним из классических модельных объектов изучения роста растяжением являются колеоптилы злаковых. В связи с этим большой интерес представляет собой сравнительное исследование микросомального и цитоплазматического протеомов клеток колеоптилей ржи [82]. Работа проведена на третьи сутки развития, когда колеоптилы интенсивно росли, и на четвертые сутки, когда колеоптиль прорывался настоящим листом и его рост резко (на 70%) останавливался. Белки разделяли методом двумерного дифференциального гель электрофореза (2-D DIGE) с последующей идентификацией состава изменяющихся пятен с помощью обращенно-фазовой жидкостной хроматографии, сопряженной с тандемной масс-спектрометрией (LC-MS/MS). Число белков микросомальной фракции резко снижалось при утрате способности к росту. Отсутствие соответствующей базы данных для белков растений ржи позволило идентифицировать только восемь динамически изменяющихся белков, в число которых вошла E субъединица вакуолярной H^+ -АТФазы.

Еще один модельный орган для изучения ростовых процессов — корень. Хорошо известно, что в корнях можно выявить несколько зон, отличающихся по своим функциям и способности к росту. Зона растяжения первичных корней проростков кукурузы послужила моделью для исследований протеома клеточной стенки [83, 84] и микросомальной фракции, обогащенной плазмалеммой [85] в процессе роста. Были использованы четыре зоны корней, включая зону интенсивного роста, примыкающую к меристеме [85]. Перед масс-спектрометрическим исследованием белки полученной фракции разделяли на SDS-PAGE с последующим ферментативным расщеплением их до пептидов в геле. Количественную оценку изменения белкового состава проводили по результатам масс-спектрометрии (LC-MS/MS). Для большей части проанализированных белков, 83% (574 белка), количественных различий между исследованными зонами выявлено не было. Для остальных белков было отмечено нелинейное изменение, которое могло включать в себя и полное отсутствие белка в той или иной исследованной зоне. В качестве примера белков, последовательно увеличивающих свое присутствие во фракциях с удалением от кончика корня, можно привести целлюлозосинтазу и аквапорины. Было установлено, что зона растяжения характеризовалась наибольшим числом “уникальных” белков, которые не встречались в других зонах корня. Число их достигало 36. К сожалению, идентифицировать белки, имеющие более сложную динамику, не представилось возможным в связи с отсутствием секвенированного генома кукурузы.

Рассмотрим результаты еще одного уникального исследования, проведенного на клетках суспензии

онной культуры арабидопсиса T87 [86]. Авторы впервые анализировали изменения протеома плазмалеммы клеток на разных стадиях развития (lag, log и стационарной фазах) суспензионной культуры и выявили различную динамику белковых профилей при действии стрессового фактора. Показано, что содержание 392 белков изменялось в плазмалемме клеток во время роста. Они были разделены на различные функциональные группы, что свидетельствует об изменениях физиологической активности ПМ в зависимости от фазы роста. Так, ряд аквапоринов (PIP2-1 и PIP2-5) накапливались при переходе от логарифмической к стационарной фазе. Сходная динамика была установлена для шести представителей РНТ1 – высокоспецифичных фосфатных транспортеров плазмалеммы. Разнонаправленными были тренды изменения состояния Р-типа H^+ -АТФаз 1, 2, 3, 6 и 7, но не VHA-A в ходе развития суспензионной культуры. Отмечено, что из представителей ABC-переносчиков содержание пяти белков уменьшалось, а двух – увеличивалось во время log фазы роста. Авторы предположили, что паттерны изменения количества этих белков обусловлены тем, что активность везикулярной секреции (экзоцитоз и эндоцитоз) изменяется: усиливается в ходе логарифмической фазы, но снижается во время стационарной фазы. Наряду с выявлением динамики белков на разных этапах развития, авторы своей целью ставили анализ изменения протеомных профилей под воздействием холода и/или обработки АБК. Оказалось, что эффект обоих воздействий значительно отличался в зависимости от фазы роста. Количество холодо- и АБК-чувствительных белков уменьшалось во время логарифмической фазы роста. Полученные данные указывают на сложность регуляторных процессов, протекающих не только в клетке в целом, но и на уровне плазмалеммы.

Интенсивное увеличение длины клеток возможно и в результате апикального роста, примером которого может служить рост пыльцевой трубки. В экспериментах, проведенных на пыльце *Lilium longiflorum*, анализировали белковые профили микросомальной фракции, разделенной на пять субмембранных/органелльных фракций, в начале прорастания и через 10, 30, 60 и 240 мин дальнейшего роста пыльцы [87]. С помощью LC-MS/MS анализа было идентифицировано 270 белков. Показано увеличение белков, связанных с цитоскелетом, углеводным метаболизмом, энергетическим обменом и ионным транспортом на самых ранних этапах (10–30 мин). Наряду с этим уровень белков, относящихся к мембранному/белковому транспорту, сигнальной трансдукции, адаптивному ответу на стрессовое воздействие, существенно снижается. Показано, что белки, участвующие в синтезе аминокислот, липидов/стеринов, биосинтезе клеточной стенки, транспорте питательных веществ и др., были представлены в со-

ответствующих профилях независимо от этапа развития пыльцы. Тем самым, получены данные об изменении протеомов плазмалеммы и ряда других эндомембран в ходе прорастания пыльцевого зерна и формирования пыльцевой трубки.

Не вызывает сомнения, что плазмалемма клеток прорастающей пыльцы играет огромную роль в межклеточном взаимодействии пыльцы и пестика растений риса [88]. В ходе роста пыльцевой трубки интенсивно протекают обменные процессы на апикальном конце трубки. Проведенный протеомный анализ позволил выявить 1121 ассоциированный с ПМ белок. Для 192 белков отмечено изменение содержания: 119 его увеличивают, а 73 – уменьшают. Эти белки были отнесены к нескольким функциональным группам, в том числе, к сигнальным системам (в первую очередь, рецептор-подобным киназам) и транспортным системам, участвующим в обменных процессах между пыльцой и пестиком.

Еще один важнейший процесс, протекающий в растительных организмах, который можно рассматривать как этап развития – это созревание плодов. Значительные изменения в составе белков были отмечено для микросомальной фракции, полученной из клеток перикарпа плодов томата на 30 и 45 день от цветения, соответствующих полному формированию (зеленый) и созреванию (красный) плодов [89]. Всего с помощью нано-LC-MS/MS удалось выявить 1315 белков. В ходе созревания плодов томатов 145 из них характеризовались значительным изменением своего содержания. Функциональная аннотация этих белков позволила разделить их на несколько групп: метаболизм клеточной стенки, везикулярная секреция, вторичный метаболизм, липидный и белковый обмен, сигналинг, стресс-индуцированный ответ.

Исследование, проведенное на ягодах винограда, показало, что плазмалемма клеток подвергается существенным изменениям, отражающимся в белковых профилях, проанализированных с помощью 2D-электрофореза и MALDI-TOF-MS спектрометрии [90]. На первом этапе анализа очищенной фракции плазмалеммы было идентифицировано 119 белковых пятен. Последующий анализ выявил наличие 62 белков, предположительно содержащих 1–6 трансмембранных доменов. Идентифицированные белки были отнесены к восьми функциональным группам, обеспечивающим транспорт, метаболизм, сигналинг, синтез белка и др. Показано, что в ходе созревания происходит снижение числа белков в составе плазмалеммы: детектировано 119, 98 и 86 белков на 50, 75 и 95 день от начала цветения, соответственно. Статистически достоверное снижение было детектировано для 12 белков, к числу которых были отнесены Fe-связывающий белок, предшественник апоцитохрома *f*, предполагаемая ксилоглюкан-

эндо-трансгликозилаза, компонент шаперон-протеазного комплекса, зеатин О-гликозилтрансфераза, убиквитин-связывающий фермент E2-21 и другие, в том числе неидентифицированные. Было отмечено, что динамика уменьшения этих белков в составе плазмалеммы было неодинаковой.

Хорошо известно, что в формировании плодов огромное значение имеет вакуоль, которая может занимать до 90% объема клеток. Именно этот органоид “определяет” свойства плодов, т. к. в нем накапливаются такие метаболиты, как сахара, органические и аминокислоты и др. Накопление этих соединений обеспечивается различными транспортерами, ферментами, системами поддержания рН и др. Приведем пример изменения протеома тонопласта в процессе созревания яблок [91]. Количественный протеомный анализ (iTRAQ), сопряженный с нано-LC-MS/MS, позволил проанализировать 345 белков тонопласта. В эту группу входили различные транспортеры метаболитов и ионов, включая системы первично активного транспорта; белки, принимающие участие в сигналинге и метаболизме; белки, регулирующие везикулярную секрецию и адаптацию к действию стрессоров, причем 22 белка из них меняли свое содержание в ходе хранения плодов. Тем самым, получены очень важные данные о динамических изменениях протеома тонопласта не только в ходе развития и созревания плодов, но и в процессе их старения.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что как при действии стрессоров, так и при изменении характера роста или этапа развития наблюдаются изменения в белковом составе мембран, включая плазмалемму, тонопласт, мембраны ЭПС и аппарата Гольджи. Следует подчеркнуть, что динамические изменения мембранных профилей могут протекать очень быстро, включая минутные временные интервалы. Эти изменения могут определяться как увеличением содержания белков вследствие интенсификации синтетических процессов и/или везикулярной секреции, так и за счет их элиминации из состава мембран, механизмы которой еще очень мало изучены. Неоспорима необходимость продолжения исследований с использованием высокоочищенных мембранных препаратов, полученных из клеток растений с секвенированным геномом.

ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДОМА МЕМБРАН ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ И В ХОДЕ РАЗВИТИЯ

Не менее интересными являются данные о быстрых изменениях, которые происходят в составе липидов мембран растительных клеток. Технология липидомного анализа позволяет с высокой точностью оценить эти изменения. В настоящее время показаны изменения, происходящие в результате действия тех или иных стрессовых фак-

торов. Например, увеличение полиненасыщенности жирнокислотных остатков при действии низких температур с целью поддержания жидкостности мембран. Прежде чем подробно их рассмотреть, обратимся к данным о процессах, происходящих при нормальном развитии. На листьях арабидопсиса были показаны осцилляционные изменения в составе плазмалеммы (см. [92]). Пожалуй, это первый пример ритмичных изменений липидома мембран у растений. При световом режиме выращивания (12 ч свет/12 ч темнота) были показаны изменения в составе полярных глицеролипидов во фракции ФХ. Было высказано предположение, что липидный профиль отражает баланс между вновь синтезируемыми жирными кислотами и процессом восстановления ацильных групп жирных кислот за счет работы десатураз (FADs). Синтезируемые в хлоропластах жирные кислоты (C16 и C18) присоединяются к глицерину за счет ацилтрансферазной активности, после чего происходит процесс десатурации. Интересно, что ацетил-СоА карбоксилаза является светозависимым ферментом, в отличие от десатураз. Предполагают, что на свету процесс *de novo* синтеза жирных кислот протекает намного активнее, и это объясняет более высокий уровень насыщенности липидов мембран на свету. С наступлением темноты преобладающим становится процесс десатурации и уровень ненасыщенности возрастает. Суммируя, можно заключить, что липидом мембран – очень динамичная структура, свойства которой зависят от огромного числа факторов. Требуется продолжение исследований, чтобы окончательно определить факторы, которые могут управлять осцилляционными изменениями липидного профиля мембран.

История изучения устойчивости растительных организмов к низким температурам насчитывает более 180 лет [93]. Полученные данные позволяют заключить, что это свойство (устойчивость) контролируется целым рядом факторов, и в его установлении участвует множество метаболических путей и генетических механизмов. Неоднократно показано, что восприятие холодового сигнала, его трансдукция и формирование адаптивного ответа тесным образом связаны с липидами клеточных мембран. При действии этого стрессора мембранные липиды переходят из жидкостно-кристаллического состояния в гелевое, что приводит к повышению проницаемости мембраны и выходу электролитов. Увеличивается количество молекулярных форм липидов, в том числе за счет появления окисленных производных. Повреждение мембран в результате понижения температуры может протекать за счет перекисного окисления липидов, инициированного различными формами АФК. Накопление токсичного малонового диальдегида, синтезируемого в результате окисления мембранных липидов, гораздо более интенсивно

протекает в менее устойчивых растениях. Для снижения интенсивности этих негативных процессов наблюдается повышение ненасыщенности липидов клеточных мембран, в т.ч. плазмалеммы. Содержание С18:1, С18:2 и С18:3 быстро увеличивается, а С16:0 и С18:0 уменьшается. Важность этого процесса подчеркивается отсутствием устойчивости к холодовому стрессу у мутантов с нарушениями кодирования десатураз. Изменения могут затрагивать липидный спектр и других клеточных мембран. Показано увеличение содержания ФК и ДГДГ, но падение ФХ и МГДГ, что приводит к превращению ФХ в ФК в результате работы фосфолипазы D. ФК является предшественником синтеза галактолипидов, в т. ч., и в пластидных мембранах, а также важнейшей сигнальной молекулой, принимающей участие в передаче различных сигналов. Запускаемый ФК трансдукционный каскад далее кросс-интегрируется в Ca^{2+} -сигнальный каскад и сигналинг АБК [93]. Все перечисленное свидетельствует о важной роли мембранных липидов в регуляции адаптационных процессов при холодовом стрессе.

Следующий тип стрессора, на котором следует остановиться, — это повышение температуры. Типичная ответная реакция, выявленная у очень большого числа видов растений, заключается в снижении уровня ненасыщенности. Предполагают, что повышение температуры воспринимается Ca^{2+} каналами плазмалеммы, которые регулируются уровнем жидкостности мембран. Это запускает повышение уровня Ca^{2+} , связывание с кальмодулином и активацию семейства транскрипционных факторов, участвующих в регуляции уровня различных стрессовых белков, в том числе БТШ [94]. Следует отметить, что уровень ненасыщенности при термическом воздействии изменяется не только у липидов плазмалеммы, но и пластид, и ЭПС. Эти преобразования достигаются также в результате активности десатураз жирных кислот. Повышение нестабильности и увеличение времени обмена этих ферментов было отмечено при повышении температуры. Изменение уровня насыщенности липидов оказывает влияние на активность таких сигнальных ферментов, как фосфолипазы (в том числе Фл D и C) и протеинкиназы. В результате увеличивается концентрация ФК и/или инозитол-3-фосфата. Усложнение каскада обусловлено увеличением концентрации АФК (накопление H_2O_2 в течение нескольких минут за счет активации НАДФН-оксидазы). Несколько иной сценарий событий развивается в хлоропластах и митохондриях. Повышение температуры запускает перекисное окисление. Увеличение АФК в этом случае инициирует ретроградный сигналинг, приводящий к стабилизации ФСII, а следовательно, регулирует интенсивность процесса фотосинтеза. Перечисленные процессы, запускаемые повышением

температуры, вызывают значительные изменения в составе мембран, однако это направление исследований еще продолжает развиваться.

Повышение температуры окружающей среды может в природных условиях происходить одновременно с действием еще одного стрессового фактора — засухи. Недостаток воды приводит к существенным морфологическим изменениям. Повышение ненасыщенности жирных кислот считается одной из самых ярких особенностей засухоустойчивых растений [95]. Воздействие этого стрессора у устойчивых растений приводит к накоплению полиненасыщенных жирных кислот (С18:2 и С18:3). Сравнительный анализ оводненных и стрессированных растений показал, что их липидный состав сильно различается. Уровень основных классов липидов, как и общее содержание липидов, снижается при дефиците воды. Так, концентрации ФЭ, ФС и ФК были снижены на 55%. Снижение некоторых форм МГДГ достигало 70%, в тоже время изменения уровня ДГДГ были минорны. В результате для более устойчивых растений отношение МГДГ/ДГДГ возрастало. Устойчивые к засухе растения характеризуются большим уровнем антиоксидантов, что препятствует интенсивному окислению жирных кислот и продукции оксипиринов. Отмечают снижение концентрации церамидов и повышение такового для стероидов. Представленные результаты свидетельствуют о существенных изменениях липидома растений при изменении водного режима их выращивания.

Ранее уже обсуждалась важная роль ГГЛ пластид в условиях фосфорного голодания, когда они замещают фосфолипиды в клеточных мембранах [51, 54, 60]. Особого внимания заслуживает пример, когда липидомный подход к изучению этого явления позволил открыть новый минорный глицерогликолипид — глюкуронозилдиацилглицерол (ГДГ) [53]. При дефиците фосфора уровень ГФЛ снижался в листьях арабидопсиса почти вдвое (особенно ФЭ, ФИ и ФГ), а ГГЛ — существенно возрастал (ДГДГ и ГДГ — в 2 раза, СХДГ — в 4.5 раза). В побеге риса содержание ГДГ увеличивалось в 5–7 раз. Синтез ГДГ в пластидах сопряжен с образованием СХДГ. Мутанты арабидопсиса по биосинтезу этих ГГЛ в большей степени повреждались фосфорным голоданием, чем растения дикого типа. При дефиците фосфора ГДГ аккумулировался также у томатов и сои [96]. Помимо высших растений, ГДГ обнаружен в водорослях.

Рассматривая возможные модификации липидома растительных мембран, следует остановиться на действии такого фактора, как засоление. В литературе имеются результаты ряда исследований о роли липидных изменений в адаптации к высоким концентрациям солей. Высокая соленость

(250 мМ NaCl) приводила к значительным изменениям в профилях ГФЛ, ГГЛ, СФЛ и стеринов в корнях растений ячменя, выращенных гидропонно [97]. Плазматическая мембрана характеризовалась повышением уровня ненасыщенной С18:3 жирной кислоты в ГФЛ, кроме того в ответную реакцию были вовлечены преимущественно коротко- и среднецепочечные (С14-18) жирные кислоты по сравнению с длинноцепочечными. Пластидные мембраны повреждались более интенсивно, чем ПМ. Липидные профили мембран пластид характеризовались общим снижением уровня всех галактолипидов, включая ГДГ, увеличением МГДГ/ДГДГ и аккумуляцией ацилстерилгликозидов, что свидетельствовало о частичной деградации хлоропластных мембран. Повреждения были менее выраженными у солеустойчивых сортов. Деструктивных изменений в митохондриях обнаружено не было. Солевой стресс сопровождался накоплением ДФГ, что позволило предположить важную роль этого липида в поддержании стабильности митохондриальных мембран [97].

В процессе жизнедеятельности растения контактируют с огромным числом других организмов. В результате могут устанавливаться взаимоотношения самой разной направленности от патогенных до мутуалистических. Получены данные о функциональной роли разных групп липидов в ходе контактов с микроорганизмами [98]. Они участвуют в распознавании патогенов растением-хозяином (например, эргостерин) и передаче сигналов в клетках в месте инфекции (свободные жирные кислоты, оксипирины, глицерол-3-фосфат, церамиды и сфингоидные основания). Кроме того, некоторые липиды (азелаиновая кислота) опосредуют передачу сигнала инфекции дистальным органам растения во время СПУ. Липиды важны при заражении микроорганизмами грибами (лизофосфолипиды, ω -гидроксизирные кислоты). Кроме того, для создания арбускулярных структур клетки-хозяина и арбускулярного гриба необходим интенсивный синтез мембранных липидов, чтобы обеспечить большую площадь поверхности для обмена метаболитов во время колонизации.

В заключение остановимся на немногочисленных пока примерах, как меняется липидом, особенно липидом мембран, в ходе ростовых процессов растительных клеток. Один из них – апикальный рост пыльцевой трубки. Она формируется при прорастании пыльцы и растет по тканям рыльца. При этом многократно увеличивается размер плазмалеммы и тонопласта. [99]. Огромное значение приобретает везикулярная секреция. Сравнительный анализ липидома прорастающей пыльцы и пыльцевого зерна позволил заключить, что в пыльце протекает комплексное изменение синтеза липидов и целый ряд классов липидов (структурных и сигнальных) синтезируется *de novo*. Причем у ряда растений состав ГФЛ в мембранах растущей

пыльцевой трубки сходен с таковым в листьях, а в прорастающей пыльце арабидопсиса ФИ и ФК составляют около 50% ГФЛ. Активно синтезируется экстрапластидный ДГДГ. Наиболее важными для формирования и прорастания пыльцы являются стерины и СФЛ. Мутанты по их биосинтезу часто стерильны. Уровень СФЛ в ПМ зрелой пыльцы выше, чем в вегетативных тканях, преобладают глюкозилцерамиды. Также существенно отличается стериновый состав мембран пыльцы. Если главным стеринном в вегетативных тканях растений является ситостерин (60–75%), то в мембранах мужского гаметофита преобладает 24-метилхлестерин (45.5%), а стериновый состав пыльцы более разнообразен [99]. Однако требуется продолжение исследований для формирования комплексного представления о липидоме прорастающей пыльцы и окружающих тканей пестика.

Усиление синтеза липидов происходит и при другом типе роста – росте растяжением, который наблюдается при многократном быстром увеличении волокон хлопка. Экспериментальные данные предполагают, что биосинтез ненасыщенных ЖК, ФИ и фосфатидилинозитолмонофосфатов (ФИФ) активируется на раннем этапе развития волокон [100]. Выявлено преобладание ненасыщенных ФИ и их фосфатов, которые могут играть свою функциональную роль в регуляции и стимуляции удлинения клеточных волокон.

Приведенные данные свидетельствуют о существенных различиях в изменении липидных профилей различных мембран. Эти изменения могут иметь как быстрый сигнальный характер, так и происходить в рамках адаптационных процессов, а также характеризовать процессы роста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог обзору данных о современном состоянии в области изучения протеома и липидома мембран растительных клеток, следует отметить интенсификацию этих исследований, которая опирается на многообразие и постоянное совершенствование новых методов разделения и детекции, базирующихся на хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией. Данный метод не может предоставить возможность точного количественного анализа изменения содержания белков или липидов в той или иной мембране. Однако, как и большинство омиковых подходов, он позволяет провести сравнительный качественный и полуквантитативный анализ. Огромную роль играет и расширение биоинформационных ресурсов, позволяющих оценить изменения, происходящие в совокупной белковой и липидной фракциях. Все это послужило углублению наших представлений о динамической модификации белковых и липидных профилей мембран в норме и при действии стрессовых факторов. Однако немногочисленные

данные все ещё не могут охарактеризовать все процессы, сопровождающие рост и развитие.

Резкое увеличение числа исследований в области протеома и липидома мембран свидетельствует о глубоком интересе к этой области системной биологии. Однако следует подчеркнуть, что биологические мембраны представляют собой не простое биохимическое соотношение белков и липидов в правильной пропорции. Мы только начинаем понимать всю сложность взаимовлияния между различными компонентами, которые определяют как физико-химические свойства биологических мембран, так и их функциональную активность. Недаром как белки, так и липиды мембран являются активными участниками разнообразных сигнальных систем. Приведенные в обзоре данные свидетельствуют о том, что интегральная сеть мембран растительной клетки выполняет не только функцию “разграничителя” (барьера) между протекающими процессами, но и активного их участника и регулятора. Однако очевидно, что потребуется большое число исследований, чтобы восполнить существующие пробелы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 19-14-50413.

Авторы благодарят Рудашевскую Е.Л. за ценные советы при обсуждении материалов обзора.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Singer S.J., Nicolson G.L.* The fluidmosaic model of the structure of cell membranes // *Science*. 1972. V. 175. P. 720. <https://doi.org/10.1126/science.175.4023.720>
2. *Nicolson G.L.* The fluid-mosaic model of membrane structure: still relevant to understanding the structure, function and dynamics of biological membranes after more than 40 years // *BBA-Biomembranes*. 2014. V. 1838. P. 1451. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.10.019>
3. *Wilkins M.R., Pasquali C., Appel R.D., Ou K., Golaz O., Sanchez J.-C., Yan J.X., Gooley A.A., Hughes G., Humphery-Smith I., Williams K.L., Hochstrasser D.F.* From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis // *Nat. Biotechnol.* 1996. V. 14. P. 61. <https://doi.org/10.1038/nbt0196-61>
4. *Newton R.P., Brenton A.G., Smith C.J., Dudley E.* Plant proteome analysis by mass spectrometry: principles, problems, pitfalls and recent developments // *Phytochemistry*. 2004. V. 65. P. 1449. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.015>
5. *Демидов Е.А., Пельтек С.Е.* Протеомика // *Вавилонский журнал генетики и селекции*. 2014. Т. 18. С. 166.
6. *Мошковский С., Пташник О.* 12 методов в картинках: протеомика. <https://biomolecula.ru/articles/12-metodov-v-kartinkakh-proteomika>
7. *Subba P., Kotimoole C.N., Prasad T.S.K.* Plant proteome databases and bioinformatic tools: an expert review and comparative insights // *OMICS*. 2019. V. 23. P. 190. <https://doi.org/10.1089/omi.2019.0024>
8. *Schwacke R., Schneider A., van der Graaff E., Fischer K., Catoni E., Desimone M., Frommer W.B., Flugge U.-I., Kunze R.* ARAMEMNON, a novel database for Arabidopsis integral membrane proteins // *Plant Physiol.* 2003. V. 131. P. 16. <https://doi.org/10.1104/pp.011577>
9. *Tan S., Tan H.T., Chung M.C.M.* Membrane proteins and membrane proteomics // *Proteomics*. 2008. V. 8. P. 3924. <https://doi.org/10.1002/pmic.200800597>
10. *Kishimoto K., Urade R., Ogawa T., Moriyama T.* Non-destructive quantification of neutral lipids by thin-layer chromatography and laser-fluorescent scanning: suitable methods for “lipidome” analysis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001. V. 281. P. 657. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4404>
11. *Акмурзина В.А., Селищева А.А., Швец В.И.* От анализа липидов к липидомике // *Вестник МИТХТ*. 2012. Т. 7. С. 3.
12. *Namasivayam E., Kowsalya R., Padarathi P.K., Manigandan K., Jayaraj R.L., Johnravindar D., Jagatheesh K.* Plant lipidomics: signalling and analytical strategies // *PlantOmics: The Omics of Plant Science* / Eds. Barh D., Khan M.S., Davies E. Springer India, 2015. P. 331–356. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2172-2_11
13. *Shulaev V., Chapman K.D.* Plant lipidomics at the crossroads: from technology to biology driven science // *BBA-Mol. Cell Biol. L.* 2017. V. 1862. P. 786. <https://doi.org/10.1016/j.bbailip.2017.02.011>
14. *Řezanka T., Kolouchová I., Gharwalová L., Palyzová A., Sigler K.* Lipidomic analysis: From archaea to mammals // *Lipids*. 2018. V. 53. P. 5. <https://doi.org/10.1002/lipd.12001>
15. *Fahy E., Subramaniam S., Brown H.A., Glass C.K., Merrill A.H. Jr., Murphy R.C., Raetz C.R.H., Russell D.W., Seyama Y., Shaw W., Shimizu T., Spener F., van Meer G., van Nieuwenhze M.S., White S.H. et al.* A comprehensive classification system for lipids // *J. Lipid Res.* 2005. V. 46. P. 839. <https://doi.org/10.1194/jlr.E400004-JLR200>
16. *Brugiere S., Kowalski S., Ferro M., Seigneurin-Berny D., Miras S., Salvi D., Ravanel S., d'Hérin P., Garin J., Bourguignon J., Joyard J., Rolland N.* The hydrophobic proteome of mitochondrial membranes from Arabidopsis cell suspensions // *Phytochemistry*. 2004. V. 65. P. 1693. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.03.028>
17. *Millar A.H., Heazlewood J.L., Kristensen B.K., Braun H.-P., Møller I.M.* The plant mitochondrial

- proteome // Trends Plant Sci. 2005. V. 10. P. 36.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.12.002>
18. Senkler J., Senkler M., Eubel H., Hildebrandt T., Lengwenus C., Schertl P., Schwarzlander M., Wagner S., Wittig I., Braun H.-P. The mitochondrial complexome of *Arabidopsis thaliana* // Plant J. 2017. V. 89. P. 1079.
<https://doi.org/10.1111/tpj.13448>
 19. Peltier J.B., Friso G., Kalume D.E., Roepstorff P., Nilsson F., Adamska I., van Wijk K.J. Proteomics of the chloroplast: systematic identification and targeting analysis of lumenal and peripheral thylakoid proteins // Plant Cell. 2000. V. 12. P. 319.
<https://doi.org/10.1105/tpc.12.3.319>
 20. Behrens C., Blume C., Senkler M., Eubel H., Peterhänsel C., Braun H.-P. The 'protein complex proteome' of chloroplasts in *Arabidopsis thaliana* // J. Proteomics. 2012. V. 91. P. 73.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.07.001>
 21. Pendle A.F., Clark G.P., Boon R., Lewandowska D., Lam Y.W., Andersen J., Mann M., Lamond A.I., Brown J.W.S., Shaw P.J. Proteomic analysis of the Arabidopsis nucleolus suggests novel nucleolar functions // Mol. Biol. Cell. 2005. V. 16. P. 260.
<https://doi.org/10.1091/mbc.e04-09-0791>
 22. Giavalisco P., Nordhoff E., Kreitler T., Kloppel K.D., Lehrach H., Klose J., Gobom J. Proteome analysis of *Arabidopsis thaliana* by two-dimensional gel electrophoresis and matrix-assisted laser desorption/ionisation-time of flight mass spectrometry // Proteomics. 2005. V. 5. P. 1902.
<https://doi.org/10.1002/pmic.200401062>
 23. Tang Y., Huang A., Gu Y. Global profiling of plant nuclear membrane proteome in Arabidopsis // Nat. Plants. 2020. V. 6. P. 838.
<https://doi.org/10.1038/s41477-020-0700-9>
 24. Goto C., Hashizume S., Fukao Y., Hara-Nishimura I., Tamura K. Comprehensive nuclear proteome of Arabidopsis obtained by sequential extraction // Nucleus. 2019. V. 10. P. 81.
<https://doi.org/10.1080/19491034.2019.1603093>
 25. Collins C.A., Leslie M.E., Peck S.C., Heese A. Simplified enrichment of plasma membrane proteins from Arabidopsis thaliana seedlings using differential centrifugation and Brij-58 treatment // Methods Mol. Biol. 2017. V. 1564. P. 139.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6813-8_13
 26. Larsson C., Widell S., Kjellbom P. Preparation of high-purity plasma membranes // Methods Enzymol. 1987. V. 148. P. 558.
[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48054-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48054-3)
 27. Ozolina N.V., Nesterkina I.S., Kolesnikova E.V., Salyaev R.K., Nurminsky V.N., Rakevich A.L., Martynovich E.F., Chernyshov M.Yu. Tonoplast of *Beta vulgaris* L. contains detergent-resistant membrane microdomains // Planta. 2013. V. 237. P. 859.
<https://doi.org/10.1007/s00425-012-1800-1>
 28. Trentmann O., Haferkamp I. Current progress in tonoplast proteomics reveals insights into the function of the large central vacuole // Front Plant Sci. 2013. V. 4. P. 34.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00034>
 29. Chen T., Kirpichnikova A., Mikhaylova Yu., Shishova M. Comparison of two systems of tonoplast purification from tobacco cells of suspension culture BY-2 // Biol. Commun. 2020. V. 65. P. 178.
<https://doi.org/10.21638/spbu03.2020.20>
 30. Ephritikhine G., Ferro M., Rolland N. Plant membrane proteomics // Plant Physiol. Biochem. 2004. V. 42. P. 943.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.11.004>
 31. Marmagne A., Rouet M.-A., Ferro M., Rolland N., Alcon C., Joyard J., Garin J., Barbier-Brygoo H., Ephritikhine G. Identification of new intrinsic proteins in Arabidopsis plasma membrane proteome // Mol. Cell. Proteomics. 2004. V. 3. P. 675.
<https://doi.org/10.1074/mcp.M400001-MCP200>
 32. Alexandersson E., Saalbach G., Larsson C., Kjellbom P. Arabidopsis plasma membrane proteomics identifies components of transport, signal transduction and membrane trafficking // Plant Cell Physiol. 2004. V. 45. P. 1543.
<https://doi.org/10.1093/PCP/PCH209>
 33. Yadeta K.A., Elmore J.M., Coaker G. Advancements in the analysis of the Arabidopsis plasma membrane proteome // Front. Plant Sci. 2013. V. 4: 86
<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00086>
 34. Schulz B. Functional classification of plant plasma membrane transporters // Plant Cell Monogr. 2011. V. 19. P. 131.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-13431-9_6
 35. Testerink C., Munnik T. Molecular, cellular, and physiological responses to phosphatidic acid formation in plants // J. Exp. Bot. V. 62. P. 2349.
<https://doi.org/10.1093/jxb/err079>
 36. Elortza F., Mohammed S., Bunkenborg J., Foster L.J., Nühse T.S., Brodbeck U., Peck S.C., Jensen O.N. Modification-specific proteomics of plasma membrane proteins: identification and characterization of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins released upon phospholipase D treatment. // J. Proteome Res. 2006. V. 5. P. 935.
<https://doi.org/10.1021/pr050419u>
 37. Cacas J.-L., Furt F., Le Guédard M., Schmitter J.-M., Buré C., Gerbeau-Pissot P., Moreau P., Bessoule J.-J., Simon-Plas F., Mongrand S. Lipids of plant membrane rafts // Prog. Lipid Res. 2012. V. 51. P. 272.
<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2012.04.001>
 38. Tapken W., Murphy A.S. Membrane nanodomains in plants: capturing form, function, and movement // J. Exp. Bot. 2015. V. 66. P. 1573.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erv054>
 39. Shimaoka T., Ohnishi M., Sazuka T., Mitsuhashi N., Hara-Nishimura I., Shimazaki K.-I., Maeshima M., Yokota A., Tomizawa K.-I., Mimura T. Isolation of intact vacuoles and proteomic analysis of tonoplast from suspension-cultured cells of *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell Physiol. 2004. V. 45. P. 672.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pch099>
 40. Jaquinod M., Villiers F., Kieffer-Jaquinod S., Hugouvieux V., Bruley C., Garin J., Bourguignon J. A proteomics dissection of Arabidopsis thaliana vacuoles isolated from cell culture // Mol. Cell. Proteomics. 2007. V. 6. P. 394.
<https://doi.org/10.1074/mcp.M600250-MCP200>

41. Dunkley T.P.J., Hester S., Shadforth I.P., Runions J., Weimar T., Hanton S.L., Griffin J.L., Bessant C., Brandizzi F., Hawes C., Watson R.B., Dupree P., Lilley K.S. Mapping the Arabidopsis organelle proteome // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 6518. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506958103>
42. Parsons H.T., Christiansen K., Knierim B., Carroll A., Ito J., Bath T.S., Smith-Moritz A.M., Morrison S., McInerney P., Hadi M.Z., Auer M., Mukhopadhyay A., Petzold C.J., Scheller H.V., Loqué D., Heazlewood J.L. Isolation and proteomic characterization of the Arabidopsis Golgi defines functional and novel components involved in plant cell wall biosynthesis // Plant Physiol. 2012. V. 159. P. 12. <https://doi.org/10.1104/pp.111.193151>
43. Wang X., Komatsu S. Plant subcellular proteomics: Application for exploring optimal cell function in soybean // J. Proteomics. 2016. V. 143. P. 45. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.01.011>
44. Takahashi D., Kawamura Y., Yamashita T., Uemura M. Detergent-resistant plasma membrane proteome in oat and rye: similarities and dissimilarities between two monocotyledonous plants // J. Proteome Res. 2012. V. 11. P. 1654. <https://doi.org/10.1021/pr200849v>
45. Krishnamurthy P., Tana X.F., Lima T.K., Lima T.-M., Kumar P.P., Loh C.-S., Lin Q. Data in support of the proteomic analysis of plasma membrane and tonoplast from the leaves of mangrove plant *Avicennia officinalis* // Data Brief. 2015. V. 5. P. 646. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2015.10.016>
46. Datta R., Kumar D., Chattopadhyay S. Membrane proteome profiling of *Mentha arvensis* leaves in response to *Alternaria alternata* infection identifies crucial candidates for defense response // Plant Signaling Behav. 2018. V. 13: e1178423. <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1178423>
47. Nilsson R., Bernfur K., Gustavsson N., Bygdell J., Wingsle G., Larsson C. Proteomics of plasma membranes from poplar trees reveals tissue distribution of transporters, receptors, and proteins in cell wall formation // Mol. Cell. Proteomics. 2010. V. 9. P. 368. <https://doi.org/10.1074/mcp.M900289-MCP200>
48. Iwasaki Y., Itoh T., Hagi Y., Matsuta S., Nishiyama A., Chaya G., Kobayashi Y., Miura K., Komatsu S. Proteomics analysis of plasma membrane fractions of the root, leaf, and flower of rice // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. 6988. <https://doi.org/10.3390/ijms21196988>
49. Furt F., Simon-Plas F., Mongrand S. Lipids of the plant plasma membrane // Plant Cell Monogr. 2011. V. 19. P. 3. https://doi.org/10.1007/978-3-642-13431-9_1
50. Paradies G., Paradies V., De Benedictis V., Ruggiero F.M., Petrosillo G. Functional role of cardiolipin in mitochondrial bioenergetics // BBA-Bioenergetics. 2014. V. 1837. P. 408. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2013.10.006>
51. Cassim A.M., Gouguet P., Gronnier J., Laurent N., Germain V., Grison M., Boutté Y., Gerbeau-Pissot P., Simon-Plas F., Mongrand S. Plant lipids: Key players of plasma membrane organization and function // Prog. Lipid Res. 2019. V. 73. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.11.002>
52. Boudière L., Michaud M., Petroustos D., Rébeillé F., Falconet D., Bastien O., Roy S., Finazzi G., Rolland N., Jouhet J., Block M.A., Maréchal E. Glycerolipids in photosynthesis: Composition, synthesis and trafficking // BBA-Bioenergetics. 2014. V. 1837. P. 470. <http://doi.doi.org/10.1016/j.bbabi.2013.09.007>
53. Okazaki Y., Otsuki H., Narisawa T., Kobayashi M., Sawai S., Kamide Y., Kusano M., Aoki T., Hirai M.Y., Saito K. A new class of plant lipid is essential for protection against phosphorus depletion // Nat. Commun. 2013. V. 4: 1510. <https://doi.org/10.1038/ncomms2512>
54. Li-Beisson Y., Shorrosh B., Beisson F., Andersson M.X., Arondel V., Bates P.D., Baud S., Bird D., DeBono A., Durrett T.P., Franke R.B., Graham I.A., Katayama K., Kelly A.A., Larson T., et al. Acyl-lipid metabolism // Arabidopsis Book. 2013. V. 11: e0161. <https://doi.org/10.1199/tab.0161>
55. Merrill A.H., Jr., Sullards M.C. Opinion article on lipidomics: inherent challenges of lipidomic analysis of sphingolipids // BBA-Mol. Cell Biol. L. 2017. V. 1862. P. 774. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2017.01.009>
56. Pata M.O., Hannun Y.A., Ng C.K-Y. Plant sphingolipids: decoding the enigma of the Sphinx // New Phytol. 2010. V. 185. P. 611. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03123.x>
57. Valitova J.N., Sulkarnayeva A.G., Minibayeva F.V. Plant sterols: diversity, biosynthesis, and physiological functions // Biochemistry. 2016. V. 81. P. 819. <https://doi.org/10.1134/S0006297916080046>
58. Moreau P., Bessoule J.J., Mongrand S., Testet E., Vincent P., Cassagne C. Lipid trafficking in plant cells // Prog. Lipid Res. 1998. V. 37. P. 371. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(98\)00016-2](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(98)00016-2)
59. Garab G., Ughy B., Goss R. Role of MGDG and non-bilayer lipid phases in the structure and dynamics of chloroplast thylakoid membranes // Subcell. Biochem. 2016. 86. P. 127. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25979-6_6
60. Tjellström H., Hellgren L.I., Wieslander Å., Sandelius A.S. Lipid asymmetry in plant plasma membranes: phosphate deficiency-induced phospholipid replacement is restricted to the cytosolic leaflet // FASEB J. 2010. V. 24. P. 1128. <https://doi.org/10.1096/fj.09-139410>
61. Horvath S.E., Daum G. Lipids of mitochondria // Prog. Lipid Res. 2013. V. 52. P. 590. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.07.002>
62. Zhang C., Hicks G.R., Raikhel N.V. Molecular composition of plant vacuoles: Important but less understood regulations and roles of tonoplast lipids // Plants. 2015. V. 4: 320-333; <https://doi.org/10.3390/plants4020320>
63. Michaud M., Prinz W.A., Jouhet J. Glycerolipid synthesis and lipid trafficking in plant mitochondria // FEBS J. 2017. V. 284. P. 376. <https://doi.org/10.1111/febs.13812>
64. Fouillen L., Maneta-Peyret L., Moreau P. ER membrane lipid composition and metabolism: lipidomic

- analysis // *Methods Mol. Biol.* 2018. V. 1691. P. 125. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7389-7_10
65. Markham J.E., Lynch D.V., Napier J.A., Dunn T.M., Cahoon E.B. Plant sphingolipids: function follows form // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2013. V. 16. P. 350. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.009>
66. Нестёркина И.С., Озолина Н.В., Бадыев Б.К., Федорова Г.А., Нурминский В.Н., Спиридонова Е.В., Салеев Р.К. Рафты вакуолярной мембраны столовой свеклы содержат V-H⁺-АТФ-азу // *Биологические мембраны.* 2016. Т. 33. С. 450. <https://doi.org/10.7868/S0233475516060098>
67. König S., Mosblech A., Heilmann I. Stress-inducible and constitutive phosphoinositide pools have distinctive fatty acid patterns in *Arabidopsis thaliana* // *FASEB J.* 2007. V. 21. P. 1958. <https://doi.org/10.1096/FJ.06-7887COM>
68. Sacas J.-L., Buré C., Grosjean K., Gerbeau-Pissot P., Lherminier J., Rombouts Y., Maes E., Bossard C., Gronnier J., Furt F., Fouillen L., Germain V., Bayer E., Cluzet S., Robert F., et al. Revisiting plant plasma membrane lipids in tobacco: a focus on sphingolipids // *Plant Physiol.* 2016. V. 170. P. 367. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00564>
69. Nyholm T.K.M. Lipid-protein interplay and lateral organization in biomembranes // *Chem. Phys. Lipids.* 2015. V. 189. P. 48. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2015.05.008>
70. Grison M.S., Brocard L., Fouillen L., Nicolas W., Wewer V., Dörmann P., Nacir H., Benitez-Alfonso Y., Claverol S., Germain V., Bouütté Y., Mongrand S., Bayer E.M. Specific membrane lipid composition is important for plasmodesmata function in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2015. V. 27. P. 1228. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.135731>
71. Gronnier J., Crowet J.-M., Habenstein B., Nasir M.N., Bayle V., Hossy E., Platre M.P., Gouguet P., Raffaele S., Martínez D., Grelard A., Loquet A., Simon-Plas F., Gerbeau-Pissot P., Der C., et al. Structural basis for plant plasma membrane protein dynamics and organization into functional nanodomains // *eLife.* 2017. V. 6: e26404. <https://doi.org/10.7554/eLife.26404>
72. van Meer G., Voelker D.R., Feigenson G.W. Membrane lipids: where they are and how they behave // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2008. V. 9. P. 112. <https://doi.org/10.1038/nrm2330>
73. Nohzadeh M.S., Habibi R.M., Heidari M., Salekdeh G.H. Proteomics reveals new salt responsive proteins associated with rice plasma membrane // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2007. V. 71. P. 2144. <https://doi.org/10.1271/bbb.70027>
74. Cheng Y., Qi Y., Zhu Q., Chen X., Wang N., Zhao X., Chen H., Cui X., Xu L., Zhang W. New changes in the plasma-membrane-associated proteome of rice roots under salt stress // *Proteomics.* 2009. V. 9. P. 3100. <https://doi.org/10.1002/pmic.200800340>
75. Witzel K., Matros A., Möller A.L.B., Ramireddy E., Finnie C., Peukert M., Rutten T., Herzog A., Kunze G., Melzer M., Kaspar-Schoenefeld S., Schmülling T., Svensson B., Mock H.-P. Plasma membrane proteome analysis identifies a role of barley membrane steroid binding protein in root architecture response to salinity // *Plant Cell Environ.* 2018. V. 41. P. 1311. <https://doi.org/10.1111/pce.13154>
76. Takahashi D., Li B., Nakayama T., Kawamura Y., Uemura M. Plant plasma membrane proteomics for improving cold tolerance // *Front. Plant Sci.* 2013. V. 4: 90. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00090>
77. Miki Y., Takahashi D., Kawamura Y., Uemura M. Temporal proteomics of *Arabidopsis* plasma membrane during cold- and deacclimation // *J. Proteomics.* 2019. V. 197. P. 71. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.11.008>
78. Komatsu S., Hashiguchi A. Subcellular proteomics: application to elucidation of flooding-response mechanisms in soybean // *Proteomes.* 2018. V. 6: 13. <https://doi.org/10.3390/proteomes6010013>
79. Elmore J.M., Liu J., Smith B., Phinney B., Coaker G. Quantitative proteomics reveals dynamic changes in the plasma membrane during *Arabidopsis* immune signaling // *Mol. Cell. Proteomics.* 2012. V. 11: M111.014555. <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.014555>
80. Aloui A., Recorbet G., Lemaitre-Guillier C., Mounier A., Balliau T., Zivy M., Wipf D., Dumas-Gaudot E. The plasma membrane proteome of *Medicago truncatula* roots as modified by arbuscular mycorrhizal symbiosis // *Mycorrhiza.* 2018. V. 28. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0789-5>
81. Wienkoop S., Saalbach G. Proteome analysis. Novel proteins identified at the peribacteroid membrane from *Lotus japonicus* root nodules // *Plant Physiol.* 2003. V. 131. P. 1080. <https://doi.org/10.1104/pp.102.015362>
82. Kutschera U., Deng Z., Oses-Prieto J.A., Burlingame A.L., Wang Z.-Y. Cessation of coleoptile elongation and loss of auxin sensitivity in developing rye seedlings: A quantitative proteomic analysis // *Plant Signaling Behav.* 2010. V. 5. P. 509. <https://doi.org/10.4161/psb.11210>
83. Zhu J., Chen S., Alvarez S., Asirvatham V.S., Schachtman D.P., Wu Y., Sharp R.E. Cell wall proteome in the maize primary root elongation zone. I. Extraction and identification of water-soluble and lightly ionically bound proteins // *Plant Physiol.* 2006. V. 140. P. 311. <https://doi.org/10.1104/pp.105.070219>
84. Zhu J., Alvarez S., Marsh E.L., LeNoble M.E., Cho I.-J., Sivaguru M., Chen S., Nguyen H.T., Wu Y., Schachtman D.P., Sharp R.E. Cell wall proteome in the maize primary root elongation zone. II. Region-specific changes in water soluble and lightly ionically bound proteins under water deficit // *Plant Physiol.* 2007. V. 145. P. 1533. <https://doi.org/10.1104/pp.107.107250>
85. Zhang Z., Voothuluru P., Yamaguchi M., Sharp R.E., Peck S.C. Developmental distribution of the plasma membrane-enriched proteome in the maize primary root growth zone // *Front. Plant Sci.* 2013. V. 4: 33. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00033>
86. Li B., Takahashi D., Kawamura Y., Uemura M. Plasma membrane proteome analyses of *Arabidopsis thaliana* suspension-cultured cells during cold or ABA treatment: relationship with freezing tolerance and growth phase // *J. Proteomics.* 2020. V. 211: 103528 <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103528>

87. *Pertl H., Schulze W.X., Obermeyer G.* The pollen organelle membrane proteome reveals highly spatial-temporal dynamics during germination and tube growth of lily pollen // *J. Proteome Res.* 2009. V. 8. P. 5142.
<https://doi.org/10.1021/pr900503f>
88. *Yang N., Wang T.* Comparative proteomic analysis reveals a dynamic pollen plasma membrane protein map and the membrane landscape of receptor-like kinases and transporters important for pollen tube growth and interaction with pistils in rice // *BMC Plant Biol.* 2017. V. 17: 2.
<https://doi.org/10.1186/s12870-016-0961-7>
89. *Pontiggia D., Spinelli F., Fabbri C., Licursi V., Negri R., De Lorenzo G., Mattei B.* Changes in the microsomal proteome of tomato fruit during ripening // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. 14350
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-50575-5>
90. *Zhang J., Ma H., Feng J., Zeng L., Wang Z., Chen S.* Grape berry plasma membrane proteome analysis and its differential expression during ripening // *J. Exp. Bot.* 2008. V. 59. P. 2979.
<https://doi.org/10.1093/jxb/ern156>
91. *Liu R., Wang Y., Qin G., Tian S.* iTRAQ-based quantitative proteomic analysis reveals the role of the tonoplast in fruit senescence // *J. Proteomics.* 2016. V. 146. P. 80.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.06.031>
92. *Nakamura Y.* Membrane lipid oscillation: an emerging system of molecular dynamics in the plant membrane // *Plant Cell Physiol.* 2018. V. 59. P. 441.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcy023>
93. *Zhang H., Dong J., Zhao X., Zhang Y., Ren J., Xing L., Jiang C., Wang X., Wang J., Zhao S., Yu H.* Research progress in membrane lipid metabolism and molecular mechanism in peanut cold tolerance // *Front. Plant Sci.* 2019. V. 10: 838.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00838>
94. *Niu Y., Xiang Y.* An overview of biomembrane functions in plant responses to high-temperature stress // *Front. Plant Sci.* 2018. V. 9: 915.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00915>
95. *Moradi P., Mahdavi A., Khoshkam M., Iriti M.* Lipidomics unravels the role of leaf lipids in thyme plant response to drought stress // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18: 2067.
<https://doi.org/10.3390/ijms18102067>
96. *Okazaki Y., Nishizawa T., Takano K., Ohnishi M., Mimura T., Saito K.* Induced accumulation of glucuronosyldiacylglycerol in tomato and soybean under phosphorus deprivation // *Physiol. Plant.* 2015. V. 155. P. 33.
<https://doi.org/10.1111/pp1.12334>
97. *Yu D., Boughton B.A., Hill C.B., Feussner I., Roessner U., Rupasinghe T.W.T.* Insights into oxidized lipid modification in barley roots as an adaptation mechanism to salinity stress // *Front. Plant Sci.* 2020. V. 11: 1.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00001>
98. *Siebers M., Brands M., Wewer V., Duan Y., Hölzl G., Dörmann P.* Lipids in plant-microbe interactions // *BBA-Mol. Cell Biol. L.* 2016. V. 1861. P. 1379.
<https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.02.021>
99. *Ischebeck T.* Lipids in pollen - they are different // *BBA-Mol. Cell Biol. L.* 2016. V. 1861. P. 1315.
<https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.03.023>
100. *Liu G.-J., Xiao G.-H., Liu N.-J., Liu D., Chen P.-S., Qin Y.-M., Zhu Y.-X.* Targeted lipidomics studies reveal that linolenic acid promotes cotton fiber elongation by activating phosphatidylinositol and phosphatidylinositol monophosphate biosynthesis // *Mol. Plant.* 2015. V. 8. P. 911.
<https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.02.010>