

УДК 581.1

Авторы посвящают этот обзор 100-летию со дня рождения Ольги Александровны Семихатовой, выдающегося исследователя дыхания и энергетического баланса растительных клеток

## АВТОФАГИЯ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

© 2022 г. Е. В. Тютерева<sup>а</sup>, \*, А. В. Мургузова<sup>а</sup>, О. В. Войцеховская<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В. Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: ETutereva@binran.ru

Поступила в редакцию 19.05.2021 г.

После доработки 28.06.2021 г.

Принята к публикации 01.07.2021 г.

Энергетический гомеостаз растительной клетки определяется балансом образования и расходования аденилатов с макроэнергетическими связями – АТФ и АДФ. Для поддержания анаболизма необходимо относительное насыщение аденилатного пула фосфоангидридными связями. Продукция АТФ в растительной клетке осуществляется в митохондриях и хлоропластах, а оптимальная концентрация АТФ в клеточных компартментах поддерживается с помощью аденилаткиназ, которые функционируют в цитозоле, митохондриях, пластидах и ядре. Для синтеза АТФ в хлоропластах и митохондриях, а также транспорта нутриентов в клетку и органеллы, критически важна регуляция ионного гомеостаза. В энергетическом метаболизме важную роль выполняет автофагия – процесс активной деградации ненужных или поврежденных клеточных компонентов и макромолекул в литической вакуоли. При поддержании высокого энергетического статуса клетки в благоприятных условиях конститутивная автофагия выполняет функцию контроля качества клеточных компонентов. При нехватке энергии автофагия становится механизмом удаления поврежденных структур, а также ремобилизации метаболитов, используемых для синтеза новых структур и АТФ, что в конечном итоге способствует выживанию клетки. Митофагия и хлорофагия позволяют поддерживать популяцию функционально активных “станций” эффективной продукции АТФ, предупреждая накопление дефектных митохондрий и хлоропластов – потенциальных источников АФК. Однако, усиление автофагического потока выше порогового уровня может предшествовать программированной клеточной смерти (ПКС) вакуолярного типа. В этом случае автофагия тоже выполняет функцию сохранения энергии, обеспечивая отток нутриентов из погибающих клеток в соседние ткани. У растений на сегодняшний день известны два центральных протеин-киназных комплекса, регулирующих переключение между анаболическими и катаболическими путями метаболизма – комплексы киназы SnRK1 (Snf1-related protein kinase 1) и TOR (target of rapamycin). TOR-киназа поддерживает активное протекание энергетически затратных процессов метаболизма в благоприятных условиях, одновременно ингибируя катаболизм, в т.ч. автофагию. В условиях дефицита энергии происходит активация функционального антагониста TOR – киназы SnRK1, которая является сенсором изменений энергетического гомеостаза в растительной клетке. SnRK1 ингибирует TOR, способствуя активации автофагии через несколько независимых путей. В обзоре проанализированы современные представления о взаимодействиях между киназными комплексами SnRK1 и TOR, автофагией и ПКС при регуляции энергетического баланса в клетке растений.

**Ключевые слова:** автофагия, SnRK1-киназа, TOR-киназа, энергетический статус, ионный гомеостаз, АМФ, стресс, программированная клеточная смерть

**DOI:** 10.31857/S001533032202021X

**Сокращения:** АК – аденилаткиназа; ПКС – программированная клеточная смерть; ТАГ – триацилглицерол; ЭПР – эндоплазматический ретикулум; AIM – ATG8-interacting motif; AKIN – *Arabidopsis* KIN; AMPK – AMP-dependent kinase; ATI – ATG8-interacting protein 1; ATG – AuTophagy-related genes; bZIP – Basic Leucine Zipper; CBM – carbohydrate binding module; CHMP1 – Charged Multivesicular Body 1; DCMU – 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea; eATP – extracellular ATP; FMT – friendly mitochondria; GRIK1,2 – geminivirus Rep interacting kinase1,2; GORK – guard cell outward-rectifying K<sup>+</sup> channel; GTP – guanosine triphosphate; KIN – catalytic subunit of the SnRK1 protein kinase; LST8 – lethal with SEC-thirteen protein 8; MgАДФ – хелат АДФ с ионами магния; MgАТФ – хелат АТФ с ионами магния; PAS – phagophore assembly site; PM-ANT1 – Plasma Membrane Adenine nucleotide translocator 1; PP2Cs – Protein Phosphatase 2c; PUB4 – plant U-box 4; RAPTOR – Regulatory-associated protein of TOR; RCBs – Rubisco-containing bodies; RGS – Regulator of G-protein signaling gene; SAPK – stress-activated MAP kinase; SIN1 – SAPK-interacting protein 1; SnAK – SnRK-Activating Kinase; SNF1 – Sucrose non-fermenting 1; SnRK1 – Snf1-related protein kinase 1; SSSL – small starch granule-like structure; T6P – trehalose-6-phosphate; TOR – target of rapamycin; UIM – ubiquitin-interacting motif; VPE – vacuolar processing enzyme.

## ВВЕДЕНИЕ

Рост и развитие растений являются энергозатратными процессами. При варьировании условий среды либо при смене морфогенетических программ, например, при ускорении роста проростков или начале старения, клетка может испытывать кратковременный локальный или глубокий и продолжительный дефицит энергии. Автофагия (*др.-греч.* самопоедание) представляет собой процесс деградации и реутилизации поврежденных цитоплазматических компонентов, в т. ч. органелл, который играет важную роль в поддержании энергетического гомеостаза растительной клетки. Изучение автофагической деградации как компенсаторного процесса, необходимого для выживания клетки при недостатке энергетического ресурса, было инициировано экспериментами по азотному голоданию культуры дрожжей [1]. С тех пор на протяжении третьего десятилетия наблюдается бум исследований физиологических ролей и молекулярных механизмов этого катаболического процесса у различных эукариотических организмов.

В клетках растений описано три основных типа автофагии: макроавтофагия, микроавтофагия и мега-автофагия, или мега-автолиз [2–4]. Каждый тип автофагии имеет характерные цитологические особенности. Наиболее универсальным и хорошо изученным типом является макроавтофагия. Отличительная черта макроавтофагии – образование автофагосом, двумембранных везикул, инкапсулирующих порции цитоплазматического материала (карго), предназначенные для литической деградации [5]. После того как автофагосома доставляется к центральной вакуоли, происходит слияние ее внешней мембраны с тонопластом с одновременным высвобождением карго, окруженного внутренней мембраной автофагосомы (т.н. автофагического тела), в просвет литической вакуоли. Образовавшиеся под действием вакуолярных гидролаз продукты расщепления карго либо депонируются в вакуоли, либо с помощью пермеаз транспортируются в цитозоль и расходуются на актуальные нужды клетки [3]. Индукцию этого типа автофагии наблюдали в клетках различных тканей на широком круге растительных объектов [3, 4, 6–8]. При микроавтофагии цитоплазматический материал захватывается напрямую мембраной тонопласта путем образования инвагинаций или протрузий [9, 10]. Поскольку специфичные для микроавтофагии молекулярные маркеры пока не выявлены, исследования механизмов и роли этого пути катаболизма у растений крайне немногочисленны [9, 10]. Мега-автофагия является самой экстремальной формой деградации клеточного содержимого у растений. Основное цитологическое событие мега-автофагии состоит в разрыве мембраны тонопласта и

высвобождении вакуолярных гидролаз в цитоплазму, что приводит к лизису всего содержимого клетки и в некоторых случаях даже клеточной стенки [2, 11]. Чаще всего мега-автофагия выступает в качестве заключительной стадии запрограммированной клеточной смерти (ПКС), которая индуцируется естественным образом при морфогенезе, например, при ксилогенезе, или при патогенной атаке, например, при гиперчувствительном ответе [3, 11, 12]. Впервые концепция генетически запрограммированного характера гибели протопласта и роли автолиза в этом процессе была предложена в работах чл.-корр. РАН Ю. В. Гамалея для дифференцирующихся трахеид в корнях ели [13, 14].

В оптимальных для роста и развития условиях в клетках растений протекают процессы базальной (конститутивной) автофагии, которая характеризуется низкой интенсивностью деградации клеточных компонентов и выполняет функции контроля качества, позволяя избавляться от дефектного содержимого цитоплазмы – как правило, долгоживущих белковых комплексов и органелл [3, 4, 15]. Практически все известные виды абиотического стресса (голодание по различным нутриентам, гипоксия, окислительный стресс, засуха, солевой и осмотический стрессы), а также патогенная атака, могут приводить к многократной интенсификации образования автофагосом и развитию стресс-индуцируемой автофагии [4, 6, 7, 12]. В этом случае происходит значительное усиление автофагического потока, т.е. скорости полной деградации клеточных компонентов от стартовой точки – момента захвата карго в автофагосомы – до конечной точки – образования продуктов литического расщепления этого компонента в вакуоли (т.н. полной автофагии – *productive*, или *complete autophagy*), относительно базового уровня, наблюдаемого при конститутивной автофагии [16].

Для инициации процесса образования автофагосом и их дальнейшей сборки необходимо участие т.н. автофагических белков, кодируемых высококонсервативными семействами генов *ATG* (*AuTophagy-related genes*). За последние десятилетия было описано около 20 эукариотических *ATG*-белков, функционирующих на разных этапах автофагии у дрожжей, животных и растений [17]. Методами сравнительного анализа геномов была показана высокая консервативность *ATG*-генов у всех групп эукариотических организмов [18, 19]. По сравнению с животными и дрожжами, в растительных клетках многие *ATG*-белки кодируются полигенными семействами (например, в геноме *Arabidopsis thaliana* идентифицировано четыре гена, гомологичных *ATG1*, по два гомолога *ATG13* и *ATG14*, и девять гомологов *ATG8*, тогда как у дрожжей эти гены представлены единичными копиями), а также экспрессируются гены специфичные для растений молекулярных участников автофагии [5, 17, 20, 21]. *ATG*-гены экспрессируют-

ся во всех группах водорослей, кроме красных водорослей, у которых в геномах нескольких изученных представителей не удалось обнаружить ни одной последовательности, кодирующей ATG-белки [18].

В биогенезе автофагосом у растений принимают участие шесть групп основных, или коровых, ATG-белков: (1) киназный комплекс ATG1 (ATG1, ATG13, ATG11, ATG101, VPS34, VPS15); (2) трансмембранный белок ATG9; (3) фосфоинозитид-3-киназный комплекс III класса (ATG6, ATG14); (4) комплекс белков ATG2-ATG18; (5) ATG8-липидирующая система; (6) ATG12-конъюгирующая система [5, 17, 20]. Сборка автофагосомы представляет собой многоэтапный процесс: сначала с участием субдоменов эндоплазматического ретикулума (ЭПР) около субклеточной частицы, предназначенной для деградации, образуется преавтофагосомальная структура, затем происходит ее отделение и формируется фагофор — двумембранная структура, которая постепенно увеличивается и замыкается вокруг карго, образуя автофагосому.

Автофагический процесс развивается в несколько этапов [17, 22]. (1) Инициация автофагии происходит в ответ на индуцирующие сигналы, которые вызывают дефосфорилирование белка ATG13 и последующую активацию инициаторного ATG1/ATG13 комплекса. (2) Зарождение двойной мембраны преавтофагосомальной структуры в сайте сборки фагофора (phagophore assembly site; PAS) в виде везикулы, отделившейся от внутриклеточных мембран, сопровождается декорированием мембраны фагофора фосфатидилинозитол-3-фосфатом с помощью фосфоинозитид-3-киназного комплекса III класса. Источником мембранного материала для фагофора могут выступать субдомены эндоплазматического ретикулума, в которые встраиваются ATG9-содержащие везикулы, отделившиеся от транс-цистерн аппарата Гольджи. (3) Рост фагофора, т.е. увеличение изолирующей мембраны, окружающей карго, обеспечивается слиянием с ATG9-содержащими везикулами при участии комплекса ATG2-ATG18. Этот процесс сопровождается ассоциацией ATG8 с автофагосомой при участии ATG12-конъюгирующей системы, которая обеспечивает конъюгацию ATG8 с фосфатидилэтаноламином. (4) Созревание автофагосомы (т.е. замыкание мембраны фагофора), ее транспорт к вакуоли и слияние автофагосомы с эндосомами для обогащения липидами и белками, необходимыми при слиянии с тонопластом, предшествуют слиянию автофагосомы с литической вакуолью. (5) Слияние наружной мембраны автофагосомы с литической вакуолью сопровождается выделением карго в виде автофагического тела в вакуоль [17, 22].

Важно отметить, что в геноме растений идентифицировано множество генов-ортологов ATG8 дрожжей [21], что, вероятно, связано с их участием в т.н. селективной автофагии у растений, при которой происходит дифференцированное распознавание большого количества вариантов карго. Помимо того, что конъюгат ATG8-белка с фосфатидилэтаноламином необходим для роста фагофора и формирования автофагосомы, он также взаимодействует с ATG8-распознающими адапторными и селективными рецепторными белками. ATG8-распознающие белки (ATG8-interacting proteins) содержат ATG8-распознающую последовательность (ATG8-interacting motif, AIM) или убиквитин-распознающую последовательность (ubiquitin-interacting motif, UIM) для связывания с белком ATG8 [23, 24]. Селективная автофагия играет важнейшую роль в клетке, и все больше исследований показывают, что большинство процессов, связанных с автофагической деградацией, протекают с высокой селективностью.

В предлагаемом обзоре мы рассмотрим взаимосвязь автофагии как крупнейшей катаболической программы эукариот с энергетическим статусом растительной клетки.

#### ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ. ПРИЧИНЫ ДЕФИЦИТА ЭНЕРГИИ В КЛЕТКЕ

Аденозин-5'-трифосфат (АТФ) — универсальный энергетический эквивалент, который выступает в качестве энергетического донора для большинства метаболических реакций. АТФ представляет собой нуклеотидфосфат, состоящий из азотистого основания (аденина), пентозы (рибозы) и трех фосфорильных групп — остатков фосфорной кислоты. Перенос фосфорильной, пирофосфорильной или аденильной группы от АТФ является основным механизмом обеспечения энергией ферментативных реакций в растительной клетке. Две концевые фосфорильные группы в молекуле АТФ образуют макроэргические связи, последовательный гидролиз которых приводит к высвобождению энергии ( $\Delta G^0 = -30.6$  кДж/моль для каждой реакции гидролиза) и образованию АДФ и АМФ, соответственно. Большинство ферментов используют АТФ и АДФ в виде хелатов с ионами магния ( $MgATP$  и  $MgADP$ ). Свободные нескомплексованные с ионами магния молекулы АТФ и АДФ могут подавлять активность многих ферментов, в особенности киназ [25]. Роль АТФ не ограничивается сохранением и переносом энергии в клетке, поскольку АТФ является также важнейшим субстратом для биосинтеза нуклеиновых кислот, аллостерическим эффектором некоторых ферментов и гидротропным веществом для белков [26]. Недавно было показано, что в апопласте может формироваться внеклеточный пул молекул

АТФ (eATP). АТФ может секретироваться в апопласт растительной клетки посредством экзоцитоза, переноса через мембрану с помощью АТФ-связывающего ABC-транспортера и плазматического нуклеотидного транспортера PM-ANT1 (Plasma Membrane Adenine Nucleotide Translocator 1) или выйти в апопласт при механическом повреждении плазматической мембраны. Апопластный пул АТФ осуществляет сигнальную роль в развитии ответа на стресс [27, 28].

Регуляция баланса между образованием и потреблением энергии АТФ определяет энергетический статус клетки. Поддержание анаболического обмена требует высокой скорости работы множества цитозольных ферментов, что связано с необходимостью их насыщения АТФ. Поддержание концентрации АТФ обеспечивается, главным образом, путем регенерации из пула АДФ и неорганического фосфата. При нормоксии большая часть АТФ в клетке синтезируется с помощью АТФ-синтаз, функционирующих на внутренней мембране двух энергопродуцирующих органелл — хлоропластов и митохондрий [29]. Вклад митохондрий и хлоропластов в поддержание цитозольной и внутриядерной концентрации АТФ в автотрофной клетке растений на свету и в темноте исследовался на протяжении XX в. многими крупными зарубежными и отечественными научными коллективами, в том числе, сотрудниками лаборатории Фотосинтеза Ботанического института им. В.Л. Комарова АН СССР под руководством О.А. Семихатовой в 1980х гг. [30, 31]. Одним из препятствий оставалась исключительная методическая сложность проведения экспериментальных работ. В частности, измерение абсолютного содержания аденилатов в разных компартментах клетки затруднено в связи с очень высокой скоростью их взаимопревращения. На сегодняшний день применение трех различных методов детекции — метода быстрого фракционирования протопластов [32],  $^{31}\text{P}$  ЯМР-спектроскопии [33] и получение трансгенных растений *Arabidopsis* с флуоресцентным белковым биосенсором ATeam1.03-nD/nA [34] в сочетании с использованием специфических ингибиторов привели к взаимоподтверждающим результатам по относительному содержанию аденилатов, а также позволили измерить их концентрации. На нескольких модельных растительных системах показано, что концентрация АТФ в цитозоле варьирует в пределах 1–2 мМ [33, 34]. В тканях 10-дневных проростков *Arabidopsis* содержание метаболически активного хелата MgATФ составляет от  $0.75 \pm 0.16$  мМ в клетках корня до более чем 1.4 мМ в семядольных листьях.

На протяжении всего жизненного цикла растения испытывают флуктуации энергетического статуса под влиянием множества естественных причин, таких как смена дня и ночи или кратковременное затенение, а также под действием стрессо-

вых условий, таких как засуха, затопление, засоление, низкая и высокая температура воздуха или недостаток нутриентов. Дефицит энергии, развивающийся под действием большинства типов стресса, вызывает изменения метаболических процессов, обозначаемые как низкоэнергетический синдром [35, 36]. Перепрограммирование метаболизма клетки с участием центральных регуляторных протеинкиназ при развитии низкоэнергетического синдрома способствует адаптации к изменившимся условиям среды и будет подробно обсуждаться далее.

### АДЕНИЛАТНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ И МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ БАЛАНСА АДЕНИЛАТОВ В КЛЕТКЕ

Для поддержания энергетического гомеостаза в клетках растений осуществляется постоянная динамическая регуляция содержания адениннуклеотидов АМФ, АДФ и АТФ. Для количественного выражения энергетического статуса клетки используется величина аденилатного энергетического заряда, который отражает относительное насыщение аденилатного пула фосфоангидридными связями и рассчитывается как  $([\text{АТФ}] + 1/2[\text{АДФ}])/([\text{АТФ}] + [\text{АДФ}] + [\text{АМФ}])$  [37]. Величина энергетического заряда может изменяться от нуля, когда в растворе присутствует только АМФ, до единицы, что означает превращение всех молекул АМФ в АТФ. Энергетический заряд митохондрий, хлоропластов и цитозоля при освещении (от 5 мин после включения света) поддерживается в пределах 0.70–0.94 [38, 39]. Ключевую роль в определении соотношения аденилатов в клетке играет аденозинмонофосфаткиназа, или аденилаткиназа (АК; АТФ:АМФ фосфотрансфераза, ЕС 2.7.4.3). АК катализирует обратимую реакцию образования двух молекул АДФ из АТФ и АМФ. С учетом хелатирования субстратами и продуктами ионов магния реакция, катализируемая АК, может быть представлена следующим образом:  $\text{MgАДФ} + \text{АДФ} \leftrightarrow \text{MgАТФ} + \text{АМФ}$  [25]. Аденилаткиназа осуществляет рециклирование АМФ и АДФ, которые образуются в метаболических реакциях с передачей энергии от АТФ, и в значительной мере влияет на энергетический заряд клетки [40]. В геноме *Arabidopsis thaliana* выявлено восемь генов, кодирующих ферменты с аденилаткиназной активностью. Изоформы АК локализованы в пределах одного из четырех компартментов — в цитозоле, митохондриях, пластидах и ядре [25]. Пулы аденилатов распределены в компартментах фотосинтезирующей клетки листа неравномерно: 45% адениннуклеотидов локализовано в строме пластида, 46% в цитозольно-ядерной фракции и 9% в митохондриях [39]. Баланс аденилатов, регулируемый АК, является буферным механизмом, поддерживающим оптимальную кон-

центрацию АТФ в клетке, не допуская, с одной стороны, сверхнакопления АТФ, а с другой стороны – критического снижения концентрации аденилатов с макроэргическими связями (АТФ и АДФ).

Вопрос о соотношении вклада синтеза и транспорта АТФ из митохондрий и хлоропластов на свету и в темноте в цитоплазматическую концентрацию АТФ оставался дискуссионным на протяжении многих десятилетий. На сегодняшний день считается, что основным источником аденилатов и ионов магния для цитозоля является хондриом [29, 39]. Цитозольная концентрация  $MgATP$  как в темноте, так и на свету главным образом определяется экспортом АТФ, который образуется в результате окислительного фосфорилирования в митохондриях [29, 41–44]. На свету, несмотря на то, что синтез АТФ протекает и в хлоропластах, не происходит его экспорта в цитозоль, однако, важная роль в поддержании энергетического баланса принадлежит экспорту из хлоропластов триозофосфатов в обмен на неорганический фосфор  $P_i$ , а также малата в обмен на оксалоацетат [29, 42]. Образующийся на свету в хлоропластах малат окисляется в митохондриях в процессе дыхания, и таким образом утилизируется избыток НАДФН хлоропластов, что критически важно для поддержания в них стромального пула акцепторов электронов  $НАДФ^+$  и высокой скорости линейного электронного транспорта [43, 44]. Кроме того, окисление в митохондриях малата позволяет поставлять в цитозоль АТФ для синтеза сахарозы [43, 44]. Показано, что хлоропласты зрелых клеток листа практически не импортируют АТФ из цитозоля и не снижают его цитоплазматический уровень ни на свету, ни в темноте [44, 45].

Адениннуклеотиды с разной степенью фосфорилированности и в зависимости от хелатирования ионов магния выступают в качестве важных регуляторов метаболических процессов [25]. Соотношение  $MgATP/MgADP$  в клеточном компартменте отражает потенциал поддержания реакций анаболизма; соотношение не связанных с  $Mg^{2+}$  адениннуклеотидов АТФ/АДФ отражает потенциал транслокации аденилатов (поскольку они транспортируются через клеточные мембраны исключительно в свободной форме), а отношение  $MgATP/AMF$  – потенциал аллостерической регуляции ферментативных процессов. Большинство  $MgATP$ -зависимых ферментов ингибируются  $MgADP$  по механизму конкурентного ингибирования, и таким образом их активность определяется отношением  $[MgATP]/[MgADP]$  [45]. Кроме того, не связанные с магнием формы АМФ и/или АДФ могут действовать как аллостерические эффекторы множества ферментов. В связи с фундаментальной ролью ионов магния в регуля-

ции активности АТФ-зависимых ферментов, реальный энергетический заряд клетки, согласно современным представлениям, определяется соотношением свободных аденилатов, аденилатов в форме хелатов магния и свободных ионов магния  $Mg^{2+}$  [25].

АК оказывает значительное влияние на катаболизм растительной клетки, поскольку поддерживает динамическую регуляцию содержания АМФ – аденозинфосфата, концентрация которого выступает наиболее чувствительным маркером изменений энергетического статуса клетки. В реакциях метаболизма наиболее распространенным вариантом гидролиза АТФ является перенос одной фосфорильной группы с образованием АДФ. При расходовании АТФ образование АМФ происходит в две стадии: сначала при гидролизе АТФ образуется АДФ, а затем в результате действия аденилаткиназы – АМФ. Снижение концентрации АТФ на 10% может приводить к десятикратному увеличению содержания АМФ. Поэтому многие регуляторные процессы метаболизма связаны именно с концентрацией АМФ.

#### КИНАЗА SNRK1 КАК СЕНСОР ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА

Высококонсервативная протеинкиназа SnRK1 (Sucrose non-fermenting1-Related Kinase1) является одним из основных регуляторов метаболизма растений и активируется в стрессовых условиях для поддержания энергетического гомеостаза. В отличие от гомологов у млекопитающих и дрожжей – AMPK и SNF1, SnRK1-киназный комплекс растений не регулируется аллостерически молекулами АМФ, хотя его активность коррелирует со значениями отношений АМФ/АТФ и АДФ/АТФ в клетке [46]. В ответ на дефицит энергии SnRK1 восстанавливает энергетический баланс за счет усиления продукции АТФ в митохондриях путем активации гликолиза и окисления жирных кислот, параллельно ингибируя биосинтетические процессы, потребляющие АТФ [47]. Это достигается как прямым фосфорилированием ключевых ферментов метаболических путей, например, гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы или сахарозофосфатсинтазы, так и изменением транскрипции множества генов, в том числе автофагических [47–50].

SnRK1 представляет собой гетеротримерный комплекс, состоящий из каталитической  $\alpha$ - и регуляторных  $\beta$ - и  $\beta\gamma$ -субъединиц. Каждый тип субъединиц представлен несколькими изоформами, которые могут составлять шесть комбинаций активного SnRK1-киназного комплекса, что показано для *Arabidopsis thaliana*. В геноме растений идентифицированы гены, кодирующие три изоформы  $\alpha$ -субъединицы (SnRK1 $\alpha$ 1/KIN10, SnRK1 $\alpha$ 2/KIN11 и SnRK1 $\alpha$ 3/KIN12), три изоформы

$\beta$ -субъединицы (SnRK1 $\beta$ 1, SnRK1 $\beta$ 2, SnRK1 $\beta$ 3) и одну isoформу  $\beta\gamma$  (SnRK1 $\beta\gamma$ ) [51, 52]. У растений, в том числе *Arabidopsis*, описан также гомолог  $\gamma$ -субъединицы AMPK и SNF1 киназ млекопитающих и дрожжей — SnRK1 $\gamma$ , который не входит в состав активного SnRK1-комплекса, и функция которого на сегодняшний день остается неизвестной [52]. Регуляторные субъединицы  $\beta$  и  $\beta\gamma$  включают домены связывания углеводов (CBM), которые потенциально могут отвечать за киназную активность, локализацию и субстратную специфичность комплекса SnRK1 [51]. В структуре  $\beta\gamma$  идентифицировано четыре домена CBS (цистатионин- $\beta$ -синтазы), которые, как предполагается, могут связывать адениновые нуклеотиды и регулировать конформацию и активность киназного комплекса в ответ на изменения энергетического заряда. У злаков гены *SnRK1 $\beta$*  неактивны в большинстве органов растений и экспрессируются только в семенах, а isoформа  $\beta$ 3, специфичная для растений (SnRK1 $\beta$ 3), лишена N-концевой области и CBM, но все же собирается в комплексы SnRK1 [51]. Для первичной активации новосинтезированных нативных белков SnRK1 необходимо их фосфорилирование по аминокислотному остатку треонина Thr175(SnRK1 $\alpha$ 1) или Thr176 (SnRK1 $\alpha$ 2) в T-петле (“петле активации”) каталитического домена, которое осуществляется киназами SnRK-Activating Kinase 1 (SnAK1/GRIK1) и SnAK2/GRIK2. Активированная таким образом SnRK1 далее способна к автофосфорилированию [49].

Сверхэкспрессия одной лишь  $\alpha$ -субъединицы, при нормальном уровне экспрессии остальных субъединиц, обеспечивает высокую специфическую активность SnRK1 в клетках листа трансгенных растений [51]. Это означает, что в отличие от опосредованной  $\gamma$ -субъединицей активации при дефиците энергии, как это происходит у гомологов SnRK1 млекопитающих и дрожжей — киназ AMPK и SNF1, регуляция SnRK1 растений осуществляется путем ингибирования в условиях избытка энергии. К настоящему времени установлено, что активность SnRK1 ингибируется фосфатами сахаров: трегалозо-6-фосфатом (Т6Р), глюкозо-6-фосфатом и глюкозо-1-фосфатом [50]. Уровень Т6Р коррелирует с уровнем доступной для метаболизации сахарозы и, таким образом, является индикатором метаболического статуса клетки. Предположительно, Т6Р напрямую связывается с каталитическими субъединицами SnRK1 $\alpha$  и препятствует взаимодействию киназы SnAK и T-петли. Примечательно, что другой дисахарид — мальтоза, образующаяся в процессе ночного гидролиза транзитерного крахмала в листьях, выступает аллостерическим активатором SnRK1, хотя точный сайт связывания мальтозы пока не показан [47, 53]. Одним из механизмов подавления активности комплекса SnRK1 в отсутствие стресса

является дефосфорилирование каталитической субъединицы по домену DUF581 (domain of unknown function 581) посредством протеинфосфатаз ABI1/PP2Cs и PP2CA. При наступлении стрессовых условий гормон АБК подавляет эти фосфатазы и увеличивает активность SnRK1 [53]. Гиперактивация SnRK1-опосредованных сигнальных каскадов при развитии стрессового ответа предотвращается за счет непрерывного сумоилирования, убиквитинилирования и последующей протеасомной деградации активных комплексов SnRK1 [53].

Растущий интерес вызывают исследования регуляции SnRK1 хлоропластными и митохондриальными ретроградными сигналами, что может быть еще одним способом интеграции SnRK1 в энергетический метаболизм растений [51]. У *Arabidopsis* субъединицы KIN10 и KIN11 обнаружены в ядре и цитозоле; в ядре SnRK1 $\alpha$ 1 изменяет экспрессию ядерных генов путем взаимодействия с белками-факторами транскрипции, например bZIP63, которые регулируют группы генов, кодирующих челночные переносчики органических кислот на мембранах органелл [49]. Имеется ряд сообщений о нахождении KIN10 в хлоропластах [47, 51, 53]. Неизвестно, может ли SnRK1, либо ее ортолог AMPK, транслоцироваться в митохондрии, однако, роль AMPK в регуляции функций митохондрий, а также в активации автофагической деградации поврежденных митохондрий (митофагии), крайне важна. Если удастся доказать, что пул SnRK1 локализован в хлоропластах или митохондриях, то это сможет объяснить многие аспекты функционирования SnRK1 у растений.

#### РЕГУЛЯЦИЯ АВТОФАГИИ ЧЕРЕЗ TOR-И SNRK1-ЗАВИСИМЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ

В благоприятных условиях роста автофагия (макроавтофагия) в клетках эукариот подавляется киназным комплексом TOR (target of rapamycin) — важнейшим активатором анаболизма и репрессором катаболизма. TOR-киназный комплекс растений включает высококонсервативную серин-протеиновую киназу TOR и регуляторные белки RAPTOR (Regulatory-associated protein of TOR) и LST8 (lethal with SEC-thirteen protein 8) [47]. TOR регулирует клеточные программы путем прямого фосфорилирования белков-мишеней, например, рибосомальной киназы S6K, что активирует процессы трансляции белка, а также посредством изменения уровня транскрипции генов, связанных с метаболизмом, клеточным циклом и передачей сигналов [54]. Важнейшими факторами, вызывающими активацию TOR, являются свет, ауксин и наличие достаточного количества нутриентов, в т. ч. глюкозы [46, 47, 55]. При недостатке питательных веществ происходит

подавление активности TOR-киназного комплекса, в результате чего снижается уровень фосфорилирования множества мишеней TOR-киназы, в т.ч. автофагического белка ATG13, что приводит к сборке инициаторного комплекса ATG1/ATG13 и индукции автофагии.

Киназа SnRK1, являясь сенсором энергетического статуса клетки, способна индуцировать развитие автофагии в ответ на снижение количества сахарофосфатов через TOR-зависимый и TOR-независимый пути. В первом случае SnRK1 оказывает прямое ингибиторное действие на TOR-киназный комплекс через фосфорилирование его компонента RAPTOR [46]. Во втором случае SnRK1 способствует гиперфосфорилированию белка ATG1 и сборке инициаторного комплекса ATG1/ATG13 “в обход” TOR-киназного комплекса [56]. При дефиците нутриентов, солевом и осмотическом стрессах SnRK1 активирует автофагию посредством ингибирования TOR, а в ответ на окислительный стресс и ЭПР-стресс – напрямую через комплекс ATG1/ATG13 [5]. Кроме того, при длительном голодании по нутриентам, SnRK1 фосфорилирует белок ATG6, что приводит к индукции автофагии ATG1-независимым способом [56].

В клетках млекопитающих TOR инактивируется метаболическим сигналом дефицита аминокислот. У растений главным и, возможно, единственным метаболитом, напрямую регулирующим TOR, является глюкоза [57]. Как оказалось, даже инактивация TOR недостатком серы у *Arabidopsis* опосредована сигналами метаболизма глюкозы [58]. Несмотря на то, что аминокислоты у растений активируют TOR, и этот механизм контролирует митохондриальное дыхание, он, по видимому, не задействован в регуляции автофагии [59]. Поскольку SnRK1-киназа у растений регулируется главным образом сахарофосфатами, а не напрямую АМФ или энергетическим зарядом, то в совокупности можно заключить, что важнейшим метаболическим регулятором автофагии у растений посредством киназного модуля TOR-SnRK1 выступают сахара [60]. На наш взгляд, это хорошо согласуется с тем, что ключевыми процессами для растений как автотрофных организмов являются фотосинтез и биосинтез крахмала и сахарозы как запасной и транспортной форм ассимилированного углерода. В связи с этим важный аспект исследований автофагии состоит в выявлении ее роли в донорно-акцепторных отношениях и в распределении ассимилятов по растению. Изучение данных аспектов у сельскохозяйственно важных культур при оптимальных и стрессовых условиях делает исследования автофагии потенциально важными для улучшения их продуктивности и стрессоустойчивости [61].

Таким образом, функциональные антагонисты – киназы SnRK1 и TOR – играют важную регулирующую роль в процессах роста и стрессовых ответах, но результат их действия во многом зависит от условий, с которыми сталкивается растение. Знания о молекулярных участниках SnRK1 и TOR-опосредованных сигнальных каскадов и механизмах их перекрестной регуляции у растений непрерывно увеличиваются и детализируются. Поскольку для обеспечения продуктивности растений в стрессовых условиях необходимо функционирование и ростовых, и защитных программ, то оптимальная настройка реостата SnRK1 – TOR может привести к полному раскрытию продуктивного потенциала сельскохозяйственных культур.

### ИНТЕГРАЦИЯ АВТОФАГИИ В МЕТАБОЛИЗМ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Автофагия как крупнейшая катаболическая программа эукариот тесно интегрирована в метаболизм растений, что подтверждается в т.ч. метаболомными данными [62], и сама подвержена метаболомической регуляции через TOR-киназный комплекс и, возможно, другие не известные пока пути [57]. В то время как конститутивная автофагия удаляет поврежденные или ненужные компоненты клетки с высокой степенью селективности (например, удаление рецептора флагеллина – киназы FLS2 – с плазматической мембраны *Arabidopsis* [12]), стресс-индуцированная неселективная автофагия осуществляет массиванный лизис клеточных компонентов, в т.ч. запасных веществ. Кроме того, индукция автофагии происходит и при процессах, не связанных со стрессом, например, при прорастании семян, когда необходимы быстрая и массовая утилизация запасных веществ и высвобождение энергии и метаболитов для биосинтезов [63, 64]. Аналогичным образом активирующаяся в темное время суток в листьях “ночная автофагия” (nocturnal autophagy) участвует в деградации транзиторного крахмала в вакуолях [65]. Во всех этих ситуациях у растений может наблюдаться массиванная автофагическая деградация общего белка, а также липидов, крахмала и РНК (т.н. “bulk” автофагия); соответственно, протеазы и липазы, а также амилазы и нуклеазы, отмечены в растительных автофагосомах и/или литических вакуолях [66, 67]. Таким образом, автофагия оказывает существенное влияние на энергетический статус клетки, поставляя метаболиты для построения новых полимеров и структур и усиления продукции АТФ.

#### *Автофагия и метаболизм белков*

Согласно некоторым данным, белки по сравнению с другими полимерами могут быть наиболее подвержены окислительным модификациям;

в частности, это показано для воздействия на клетки синглетного кислорода [68]. При окислительном стрессе многократно возрастает роль автофагии в очистке клетки от поврежденных белков [3]. Автофагия представляет собой более энергозатратный, но и более эффективный путь удаления поврежденных белков по сравнению с протеасомной системой: деградации подвергаются сразу целые белковые комплексы, включая сами протеасомы, белковые агрегаты, а также органеллы или их части [15]. Образующиеся аминокислоты после дезаминирования поступают в цикл Кребса, обеспечивая продукцию АТФ в митохондриях [69].

#### *Автофагическая деградация нуклеиновых кислот*

Рибофагия – специализированный тип автофагии, направленный на гидролиз рибосом в вакуоли, где находятся нуклеазы. Селективная рибофагия как способ удаления поврежденных рибосом показана у дрожжей и животных, но пока не описана для растений [15]. В то же время, автофагическая деградация рибосом в ходе стресс-индуцированной автофагии (как принято считать, неселективный процесс) наблюдается в клетках водорослей и растений [67]. Вакуолярный гидролиз РНК является основным источником нуклеозидов и свободных рибонуклеотидов для клетки, а поскольку дезоксирибонуклеотиды синтезируются из рибонуклеотидов, то процесс автофагической деградации рибосом имеет важнейшее значение для поддержания гомеостаза нуклеотидов в клетках эукариот [15, 28]. У животных также обнаружен процесс ДНК-автофагии (DNautophagy), в частности лизосомальной деградации митохондриальной ДНК [67]. Кроме того, в клетках животных при повреждении ДНК активируется комплекс защитных реакций (DNA damage response), где важная роль принадлежит автофагии: она поставляет метаболические предшественники синтеза АТФ и ДНК и обеспечивает оптимальную репарацию ДНК [70]. Так как DNA damage response отмечен и у растений [71], можно предполагать, что автофагия может играть в нем сходную роль.

#### *Участие автофагии в ночном гидролизе транзитного крахмала в листьях*

В клетках мезофилла листа экспорт продуктов гидролиза транзитного крахмала – мальтозы и глюкозы – из хлоропластов в цитоплазму обеспечивает отток ассимилированного углерода к акцепторным органам и тканям растений, а также поддерживает метаболизм самих клеток мезофилла в темное время суток. Оказалось, что в дополнение к гидролизу крахмала непосредственно в хлоропластах часть крахмала в виде небольших

крахмальных гранул (small starch granule-like structure, SSGL) транспортируется в вакуоли, где происходит расщепление крахмала; этот процесс зависит от автофагии и от функции микротрубочек [65]. Ингибирование работы микротрубочкового цитоскелета в листьях табака увеличивало накопление крахмала, что индуцировало процесс частичной хлорофагии: куски хлоропластов с крахмальными гранулами обнаруживались в вакуоли [65]. Таким образом, в ночное время суток автофагия необходима для обеспечения метаболизма акцепторных органов и тканей за счет транспорта продуктов гидролиза синтезированного днем в ходе фотосинтеза в листьях крахмала, а также для поддержания энергетического метаболизма клеток мезофилла листьев-доноров ассимилятов. Возможно также, что уровни автофагии и гидролиза крахмала связаны через регуляторную киназу SnRK1: продукт гидролиза крахмала – мальтоза – активирует SnRK1, предположительно находящуюся в хлоропластах [52]. Каким образом сигналы от SnRK1 из хлоропластов поступают и воспринимаются в цитоплазме, предстоит исследовать.

#### *Роль автофагии в метаболизме липидов у растений и микроводорослей*

В растительной клетке автофагия участвует как в биосинтезе липидов, так и в их катаболизме. В зеленой клетке растений биосинтез липидов компартментализован в хлоропластах и в ЭПР [72, 73]. В клетке имеется два пула липидов: липиды мембран и нейтральные липиды, накапливающиеся в специализированных органеллах – липидных каплях. В отличие от животных и дрожжей, у растений участие автофагии в метаболизме триацилглицеролов (ТАГ) липидных капель было показано сравнительно недавно [3]. Так же, как и в клетках животных, в зрелых листьях *Arabidopsis* конститутивная автофагия необходима для биосинтеза ТАГ из мембранных липидов и их последующего запасаения в липидных каплях [72]. Субстратом для биосинтеза ТАГ выступают жирные кислоты, образующиеся в вакуолях после автофагической деградации в них мембранных липидов тех органелл, мембраны которых имеют ЭПР-происхождение (включая сами автофагосомы), а внутренние мембраны хлоропластов в норме не подвергаются автофагической деградации и, таким образом, не являются субстратом для последующего синтеза ТАГ [72, 73]. В то же время индуцированная голоданием липофагия, т.е. автофагическая деградация липидных капель, протекает у *Arabidopsis* по механизму микроавтофагии без участия автофагосом, т.е. как у дрожжей, но не животных [72]. Примечательно, что и липофагия, и формирование ТАГ-содержащих липидных капель с участием кон-

ститутивной автофагии в растительной клетке могут функционировать одновременно [72].

У микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* биосинтез ТАГ и накопление липидных капель также зависят от автофагии [74]; однако, в отличие от *Arabidopsis*, усиление формирования липидных капель наблюдается в ходе стресс-индуцированной автофагии в условиях голодания по макронутриентам. При недостатке фосфора и, в особенности, азота метаболизм *Chlamydomonas* претерпевает глобальные перестройки и переключается на усиленное запасание избытка углерода в форме ТАГ; автофагия играет важную роль в этом процессе [74]. У микроводоросли *Auxenochlorella protothecoides* при переходе с гетеротрофного роста на автотрофный отмечена деградация липидных капель путем микроавтофагии, которая сопровождалась биогенезом хлоропластов [75]. В целом, можно заключить, что автофагия у микроводорослей необходима, в первую очередь, для взаимопревращения хлоропластных мембранных липидов и ТАГ как в условиях голодания, так и при переходе с гетеротрофного способа питания на автотрофный (что также связано с углеродным голоданием на начальных этапах). И у растений, и у микроводорослей липолиз в липидных каплях может быть необходимым этапом для уменьшения размеров липидных капель, что облегчает их секвестирование в вакуоли с помощью микроавтофагии [72, 75]. Представляется, что роль автофагии в метаболизме липидов — как превращение мембранных липидов в запасные, богатые энергией ТАГ, так и их катаболизм до жирных кислот с последующим бета-окислением и получением энергии — вносит важный вклад в регуляцию энергетического статуса растительной клетки, который в настоящее время еще не до конца изучен и оценен.

#### *Автофагическая деградация запасных веществ при прорастании семян*

Автофагия играет важную роль в формировании и созревании семян [76], в т. ч. в транспорте запасных веществ, таких как белки, в запасающие вакуоли [77]. Однако, для обеспечения прорастающих семян энергией и субстратами биосинтезов, в первую очередь, важен гидролиз запасных веществ, в котором также участвует автофагия. В семядолях прорастающих семян черного маша (*Vigna mungo*) микроавтофагия участвует в транспорте к вакуолям белковых телец, содержащих литические ферменты — кислые гидролазы с протеолитической, липолитической, фосфатазной и рибонуклеазной активностью [63], а также в деградации запасного крахмала [64]. Для семян клешиины было получено цитологическое доказательство деградации запасных белков путем автофагии [78]. В ходе прорастания семян, запасающих

масла, например, у *Arabidopsis*, утилизация ТАГ начинается с липолиза в липидных каплях называемых также олеосомами, и заканчивается бета-окислением образовавшихся жирных кислот в глиоксисомах, т.е. протекает без видимого прямого участия автофагии. Однако в обеспечении этого процесса важную роль играет автофагическая деградация поврежденных глиоксисом как механизм контроля качества последних [79]. Кроме того, возможно, роль автофагии в деградации липидных капель прорастающих семян этим не ограничивается. Известно, что для гидролиза ТАГ необходимо убиквитинилирование покрывающих олеосомы белков олеозинов; как известно, убиквитинилирование может быть сигналом не только для протеасомной деградации, но и для автофагической. Показано, что открытое недавно взаимодействие ATG8-белков с белками, содержащими мотив UIM и представляющими собой новый класс селективных адапторов и рецепторов автофагии, может обеспечивать связывание олеозинов с ATG8 *in vitro* [23]. Возможно, этот же механизм может осуществлять и захват липидных капель автофагосомами в прорастающих семенах [73].

#### МИТОФАГИЯ И ХЛОРОФАГИЯ КАК ПУТИ УТИЛИЗАЦИИ ЭНЕРГОПРОДУЦИРУЮЩИХ ОРГАНЕЛЛ

В растительной клетке для поддержания энергетического и окислительно-восстановительного гомеостаза осуществляется координация функционирования хлоропластов и митохондрий. Эти энергопродуцирующие органеллы являются потенциально опасными источниками активных форм кислорода (АФК), сверхпродукция которых при стрессе может приводить к окислительному взрыву и гибели клетки [80, 81]. Автофагия служит одним из путей контроля качества митохондрий и хлоропластов, позволяющим селективно утилизировать поврежденные органеллы [80]. Следует отметить, что хотя пероксисомы и не относятся к энергопродуцирующим органеллам, они участвуют в гликолатном (фотодыхание) и глиоксилатном (шунт цикла Кребса) циклах в растительной клетке, которые играют значительную роль в стрессовых условиях и прорастании семян. Таким образом, функции пероксисом непосредственно связаны с функциями хлоропластов и митохондрий. Кроме того, пероксисомы активно участвуют в детоксификации АФК, продуцируемых в митохондриях и хлоропластах. Поэтому автофагическая деградация пероксисом (пексофагия) как механизм контроля их качества также важна для поддержания энергетического и окислительно-восстановительного гомеостаза клеток растений [82].

На сегодняшний день уникальный для растений процесс селективного рециклирования хлоропластов – хлорофагии – остается относительно малоизученным [23]. Охарактеризованы два основных пути автофагии хлоропластов – частичная хлорофагия и автофагическая деградация целых хлоропластов. При старении или дефиците нутриентов (в особенности при азотном голодании) в листьях *Arabidopsis* при участии ATG5 и ATG8 запускается процесс формирования выростов хлоропластов – т.н. стромул, от которых отпочковываются везикулы, заключающие в себе РуБисКО (Rubisco-containing bodies, RCBs) [23]. Недавно было показано, что белок CHMP1 (Charged Multivesicular Body 1), компонент транспортных эндосомальных сортировочных комплексов ESCRT, необходим для доставки РуБисКО-содержащих телец к вакуоли, в т. ч. для отделения RCBs от хлоропластов, а также для полного замыкания фагофора вокруг везикулы с пластидным карго [23]. Второй вариант частичной хлорофагии протекает с образованием малых ATG8-ассоциированных крахмал-содержащих телец (SSGL), отщепляющихся от стромул хлоропластов в ходе ночной автофагической деградации крахмала. Третьим типом везикул, отделяемых от поверхности хлоропластов, являются хлоропласт-ассоциированные тельца (ATG8-interacting Protein bodies; API-bodies). Мембраны этих везикул, формирующихся в ответ на голодание по углероду, например, при продолжительном затемнении проростков *Arabidopsis*, содержат рецепторы хлорофагии API1 и API2, лигандами которых могут выступать белки стромы, тилакоидов и наружной мембраны хлоропластов (ATG8-Interacting Protein 1 и 2) [23, 83].

При определенных типах повреждений индуцируется автофагическая деградация целых хлоропластов. Так, накопление АФК, вызванное световым стрессом и облучением ультрафиолетом В-диапазона (УФ-В), вызывает селективную деградацию целых хлоропластов по неизвестному пока механизму с участием белков ATG5 и ATG7 [84]. Показано, что деградация поврежденных хлоропластов осуществляется параллельно и независимо по автофагическому и убиквитин-протеасомному пути [85]. Хлорофагия целых хлоропластов, сопровождаемая частичной хлорофагией с формированием РуБисКО-содержащих телец, происходит также при длительном затемнении, вызывающем старение листьев [85].

Остается неизвестным, с какими нарушениями хлоропластов ассоциирован тот или иной тип хлорофагии при стрессе и влияет ли на деградацию хлоропластов метаболический статус растительной клетки. Недавно был описан еще один путь деградации хлоропластов, который специфично активируется при усилении продукции в них синглетного кислорода: поврежденные таким образом хлоропласты подвергаются сперва убик-

витинированию с участием цитоплазматической E3-убиквитин-лигазы PUB4 [86], а затем частичной микроавтофагии [10]. Макроавтофагия в данном процессе не участвует, поскольку такая деградация хлоропластов протекает и у мутантов-нокаут по ключевым компонентам сборки автофагосом – ATG5 и ATG7 [10]. Поскольку продукция синглетного кислорода в хлоропластах часто сопровождается световым стрессом [81], то микроавтофагия, вероятно, играет важную роль в обеспечении поддержания пула функциональных хлоропластов в фотосинтезирующих клетках.

Селективная автофагия митохондрий (митофагия) является еще одним фундаментальным процессом поддержания гомеостаза эукариотической клетки. Митохондрием эукариотических клеток представляет собой сложную динамическую сеть, которая постоянно меняет свой размер и топологию в результате процессов слияния и деления митохондрий [80]. В клетках животных и дрожжей описано сложное взаимодействие митохондриальной динамики и митофагии. Выявлено множество молекулярных участников митофагии, индуцирующейся при различных видах стресса [87, 88]. При незначительных точечных повреждениях митохондрии сливаются, в результате чего происходит разбавление повреждающего фактора и постепенное восстановление поврежденных структур. При высоком уровне стресса может происходить сегрегация повреждений, когда от материнских митохондрий отделяются и направляются на автофагическую деградацию небольшие дочерние фрагменты с поврежденным материалом. При достижении критической силы стресса и накоплении значительных повреждений крупные митохондрии окружаются и захватываются в автофагосому целиком [87]. Митофагическими рецепторами могут выступать белки наружной мембраны митохондрий, отвечающие за процессы слияния и деления митохондрий [87].

Прогресс в исследовании митофагии у растений значительно более скромный, чем для клеток животных и дрожжей. Механизмы автофагии митохондрий остаются еще менее изученными, чем хлорофагии [23]. Автофагосомо-подобные структуры, содержащие митохондрии (митофагосомы), были выявлены методами электронной микроскопии на широком круге объектов в ходе дифференцировки тканей и под действием стресса [88]. У растений митохондрии вегетативных клеток обычно округлой формы и не образуют огромных протяженных тубулярных структур, но в недавней работе [84] было показано, что, подобно митохондриям млекопитающих, они могут фрагментироваться перед митофагической деградацией при повреждении УФ-В. Митофагия у растений индуцируется в ответ на обработку ионофорными разобщителями [88, 89], и именно потеря мембранного потенциала, как и в клетках

других многоклеточных эукариот [88], служит маркером повреждения митохондрий и триггером селективной митофагии. Показано, что один из молекулярных регуляторов слияния митохондрий в сеть – белок FRIENDLY MITOCHONDRIA (FMT, суперсемейство CLUSTERED MITOCHONDRIA) – накапливается в избытке на митохондриях при их повреждении и колокализуется с ATG8, по всей видимости, выступая компонентом рецепторного или адапторного комплекса и регулятором митофагии у растений [89]. При деэтиоляции в семядольных листьях индуцируется процесс обновления пула митохондрий по механизму FMT-опосредованной митофагии, вероятно, для перенастройки митохондриальной метаболической сети и адаптации к условиям освещения и высвобождения субстратов для биогенеза хлоропластов [89]. Белки семейства лигаз E3-Ub и кардиолипсинсинтаза, опосредующие убиквитин-зависимую и липидо-зависимую митофагию в клетках млекопитающих, были идентифицированы у растений в качестве регуляторов биогенеза митохондрий, но их участие в митофагии пока не доказано [80]. Окислительный стресс, вызванный одновременным ингибированием цитохромного и альтернативного путей дыхания в митохондриях, индуцирует высокий уровень автофагии в клетках, включая митофагию, в клетках корня пшеницы [90]. У растений из всего комплекса регуляторных ATG-белков участие в митофагии при старении и углеводном голодании показано для белка ATG11, который связывается с ATG1/ATG13 комплексом, а также для ATG7, ATG8, ATG10 и ATG101 [80].

Митофагия и хлорофагия позволяют решать одну из важнейших для энергетического гомеостаза клетки задач – поддерживать популяцию здоровых функционально активных “энергетических станций”. При стрессовых условиях деградация поврежденных органелл устраняет сайты сверхпродукции АФК в клетке, облегчая работу ее антиоксидантной системы [6], а также предотвращает распространение токсичных продуктов окислительных реакций. Можно также предположить, опираясь на данные об участии митофагии в элиминации митохондриальной ДНК в клетках животных, что автофагия у растений предупреждает генетическую деградацию популяции митохондрий, вызванную накоплением соматических мутаций в митохондриальной ДНК [91].

### РОЛЬ ИОННОГО ГОМЕОСТАЗА В РЕГУЛЯЦИИ АВТОФАГИИ: КАЛИЙ И МАГНИЙ

Для продукции АТФ в хлоропластах и митохондриях необходимо создание разности электрохимического потенциала протонов по обе стороны сопрягающей мембраны. В то же время, для

трансмембранного переноса ионов и растворенных веществ между цитоплазмой и апопластом, а также между цитозолем и эндомембранными органеллами, необходимо создание разности (электродного) химического потенциала, для чего используется энергия АТФ. В обоих случаях создание протонного градиента возможно только при наличии электрического баланса переноса заряженных протонов через мембрану. Эту функцию выполняют потоки различных ионов, но особая роль принадлежит ионам калия и магния. Потоки магния в хлоропластах на свету направлены из люмена тилакоидов в строму для уравнивания закисления люмена и выполняют важную функцию активации стромальной RuBисКО [92]. Кроме того, как обсуждалось выше, ионы магния необходимы для протекания биохимических реакций с участием АТФ. Противонаправленные потоки калия уравнивают электрогенный транспорт протонов в хлоропластах и митохондриях, а также на плазматической мембране, тонопласте и других кислых эндомембранных компартментах [93–96]. Таким образом, уровни  $K^+$  связаны как с синтезом АТФ в хлоропластах и митохондриях, так и с гидролизом АТФ при закислении апопласта, вакуоли и других компартментов.

Примечательно, что активность  $H^+$ -АТФаз плазматической мембраны, а также  $H^+$ -пирофосфатазы типа I, регулируется  $K^+$  [94]. В то же время цитозольный гомеостаз  $K^+$  необходим для поддержания активности ряда цитозольных ферментов [97]. У *Arabidopsis* дефицит калия вызывает ингибирование более 50 ферментов, в т. ч. ферментов, участвующих в гликолизе и в ассимиляции азота [98]. Это привело к предположению, что уровень цитозольного  $K^+$  может выступать “метаболическим переключателем” между ана- и катаболизмом [97]. У млекопитающих содержащийся в цитозоле  $K^+$  инактивирует каспазы, а потеря  $K^+$  клетками приводит к запуску ПКС; точно так же у растений потеря  $K^+$  из клеток корня через наружу-выпрямляющие калиевые каналы GORK при солевом стрессе запускает ПКС [99] и автофагию [100]. Однако, механизмы, опосредующие запуск данных клеточных программ через потерю калия, остаются невыясненными для растений. Учитывая, что клеточные уровни  $K^+$  тесно связаны с энергообменом и энергетическим статусом растительных клеток, можно предположить, что снижение клеточного  $K^+$  активирует SnRK1, поскольку для создания протонного градиента и синтеза АТФ в митохондриях и хлоропластах необходимо поддержание трансмембранных градиентов  $K^+$ . Еще одним механизмом может быть влияние дефицита калия на гликолитические ферменты, для активности которых нужен  $K^+$  [97]. Поскольку калиевое голодание подавляет гликолиз, вероятно, что снижается доступность

пирувата для митохондриального дыхания, что приводит к падению клеточного уровня АТФ. Данная гипотеза, связывающая клеточные уровни  $K^+$  с регуляцией автофагии через энергетический метаболизм клетки, требует экспериментальной проверки.

### ДВОЙСТВЕННАЯ РОЛЬ АВТОФАГИИ ПРИ СТРЕССЕ

В стрессовых условиях клетка переключает метаболизм в режим сбережения энергии и высвобождения низкомолекулярных метаболитов в ходе гидролиза запасных веществ, а также утилизации ненужных клеточных компонентов, которые используются для продукции недостающей энергии и обеспечения критически важных биосинтетических процессов. В большинстве случаев автофагия выступает адаптивным механизмом, способствующим восполнению дефицита энергии, и выполняет цитопротекторную роль, препятствуя индукции запрограммированной клеточной смерти [101–103]. Однако, под воздействием некоторых не выявленных пока факторов возможно развитие особой формы автофагии – мега-автофагии (мега-автолиза), которая служит заключительным этапом т.н. вакуолярного типа ПКС [3, 11]. Цитологически при этом наблюдается агрегация органелл, захват компонентов клетки в крупные везикулы, увеличение объема центральной вакуоли и разрыв тонопласта, приводящий к закислению цитозоля и высвобождению ферментов вакуолярного процессинга (*vacuolar processing enzymes*, VPE, цистеиновые протеиназы с каспазоподобной активностью), которые, в свою очередь, активируют ферменты с каспазоподобной функцией [2, 101, 104, 105]. Одной из причин разрыва тонопласта является, по-видимому, нарушение координации автофагии и регуляции изотоничности компартментов клетки [6]. Развивающийся протеолитический каскад быстро разрушает весь протопласт и в некоторых случаях даже клеточную стенку. Вакуолярная клеточная гибель была описана при индукции различных программ развития, например, таких, как дифференцировка ксилемы, формирование аэренхимы в корнях при гипоксии, изменение формы листа, а также в процессе отмирания клеток при развитии гиперчувствительного ответа и старении листа [3, 11].

Автофагия является необходимым компонентом реакции гиперчувствительности – ПКС, развивающейся в ходе иммунного ответа растений на заражение биотрофными или гемибитрофными патогенами [106]. Примечательно, что запуск данной программы не происходит в отсутствие пероксисомного фермента каталазы [107]. Недавние исследования на модели суспензионной культуры табака показали, что наличие каталазы в пероксисомах необходимо также и для за-

пуска ПКС в отсутствие патогенов, и что именно пексофагия как механизм деградации каталазного белка может быть необходима для индукции ПКС [108].

Относительно недавно также была показана прямая взаимосвязь между автофагическим путем катаболизма и запуском ПКС при дефиците нутриентов. Оказалось, что при голодании по углеводу в клетках культуры табака BY-2 индуцируется транспорт предшественника ферментов вакуолярного процессинга StVPE1 в вакуоль. Впервые показано, что доставка VPE осуществляется по автофагическому пути: в везикулах, отделившихся от ЭПР, на которых был локализован и маркер автофагосом – белок StATG8IL, слитый с флуоресцентным белком RFP. Биоинформатический анализ последовательностей VPE, экспрессирующихся в вегетативных тканях, выявил ATG8-взаимодействующие участки, что указывает на строгую селективность транспорта этих ферментов. Таким образом, автофагия, индуцированная в ответ на дефицит энергии в клетке, может напрямую активировать ПКС [109]. Двойственная роль автофагии в определении судьбы клетки в условиях энергетического кризиса остается важным и малоизученным вопросом, прояснение которого станет предметом будущих исследований.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За несколько десятилетий исследования, направленные на поиск регуляторов переключения между анаболизмом и катаболизмом у растений, увенчались заметным успехом. Описаны ключевые молекулы, которые оказывают решающее влияние на энергетический статус растительной клетки. Большой прогресс достигнут в понимании того, каким образом автофагия у растений регулируется протеин-киназными комплексами SnRK1 и TOR. Заметным достижением стало выявление участия автофагических белков в везикулярной доставке предшественников ферментов вакуолярного процессинга в литическую вакуоль, что приводит к развитию ПКС по вакуолярному типу [109]. В то же время многие аспекты остаются невыясненными. Одним из интригующих вопросов является установление субклеточной локализации центральных протеин-киназных комплексов SnRK1 и TOR в растительной клетке. Дискуссионным является также существование порога снижения энергетического заряда клетки, ниже которого автофагическая деградация может из цитопротекторной программы перейти в одну из стадий клеточной смерти. В связи с важной ролью ионов магния в энергетическом обмене клетки встает вопрос о возможной роли магния также в регуляции автофагии и SnRK1-TOR модуля у растений. Поскольку автофагия сама по себе является высокоэнергетическим процессом в свя-

зи с расходом энергии на сборку автофагосом, их транспорт с участием цитоскелета и слияние с мембраной тонопласта, то важно исследовать, какие процессы поставляют энергию для ее реализации. Наконец, насколько “неселективная”, или bulk, автофагия в самом деле неселективна? При нехватке нутриентов массированной автофагической деградации подвергаются одновременно разные клеточные компоненты, и такая автофагия считается неселективной; одним из аргументов в пользу данного предположения служит то, что обеспечение селективности автофагии, как правило, требует дополнительных энергозатрат [3]. Однако, в голодающих по сахарозе клетках табака различные органеллы подвергались автофагической деградации с неодинаковой скоростью [110]. Как регулируется деградация каждого компонента, и существуют ли специфические рецепторы для “неселективной” автофагии? Эти вопросы требуют дальнейшего изучения.

Обзор подготовлен при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках проекта 20-14-50480. В обзоре были использованы результаты исследований соавторов, поддержанных Российским научным фондом (проекты № 18-16-00074 и № 14-16-00120-П). Авторы приносят извинения тем коллегам, работы которых не были процитированы из-за ограничения объема рукописи.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tsukada M., Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae* // FEBS Letters. 1993. V. 333. P. 169. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80398-e](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80398-e)
2. Van Doorn W.G., Papini A. Ultrastructure of autophagy in plant cells: a review // Autophagy. 2013. V. 9. P. 1922. <https://doi.org/10.4161/auto.2627>
3. Marshall R.S., Vierstra R.D. Autophagy: the master of bulk and selective recycling // Annu. Rev. Plant Biol. 2018. V. 69. P. 173. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040606>
4. Su T., Li X., Yang M., Shao Q., Zhao Y., Ma C., Wang P. Autophagy: An intracellular degradation pathway regulating plant survival and stress response // Front. Plant Sci. 2020. V. 11. P. 164. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00164>
5. Soto-Burgos J., Zhuang X., Jiang L., Bassham D.C. Dynamics of autophagosome formation // Plant Physiol. 2018. V. 176. P. 219. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01236>
6. Signorelli S., Tarkowski L.P., Van den Ende W., Bassham D.C. Linking autophagy to abiotic and biotic stress responses // Trends Plant Sci. 2019. V. 24. P. 413. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.02.001>
7. Chen H., Dong J., Wang T. Autophagy in plant abiotic stress management // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. P. 4075. <https://doi.org/10.3390/ijms22084075>
8. Sirko A., Masclaux-Daubresse C. Advances in plant autophagy // Cells. 2021. V. 10. P. 194. <https://doi.org/10.3390/cells10010194>
9. Sienko K., Poormassalehgoo A., Yamada K., Goto-Yamada S. Microautophagy in plants: consideration of its molecular mechanism // Cells. 2020. V. 9. P. 887. <https://doi.org/10.3390/cells9040887>
10. Lemke M.D., Fisher K.E., Kozłowska M.A., Tano D.W., Woodson J.D. The core autophagy machinery is not required for chloroplast singlet oxygen-mediated cell death in the *Arabidopsis thaliana* plastid ferrochelatase two mutant // BMC Plant Biol. 2021. V. 21. P. 342. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03119-x>
11. Hatsugai N., Yamada K., Goto-Yamada S., Hara-Nishimura I. Vacuolar processing enzyme in plant programmed cell death // Front. Plant Sci. 2015. V. 6. P. 234. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00234>
12. Dobryakova K.S., Voitsekhovskaja O.V. Molecular aspects of basic innate immunity in *Hordeum vulgare* L. // Ekol. Genet. 2020. V. 18. P. 273. <https://doi.org/10.17816/ecogen18648>
13. Гамалей Ю.В. Дифференциация трахеальных элементов протоксилемы *Picea abies* L. (Karst.): электронномикроскопические наблюдения. Дис. ... канд. биол. наук. Ленинград: АН СССР. Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова, 1967. 173 с.
14. Гамалей Ю.В. Автолиз в дифференцирующихся трахеидах // Цитология. 1971. Т. 13. С. 278.
15. Yoon S.H., Chung T. Protein and RNA quality control by autophagy in plant cells // Mol. Cells. 2019. V. 42. P. 285. <https://doi.org/10.14348/molcells.2019.0011>
16. Klionsky D.J., Abdel-Aziz A.K., Abdelfatah S., Abdellatif M., Abdoli A., Abel S., Abeliovich H., Abildgaard M.H., Abudu Y.P., Acevedo-Arozena A., Adamopoulos I.E., Adeli K., Adolph T.E., Adornetto A., Aflaki E. et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition) // Autophagy. 2021. V. 17. P. 1. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1797280>
17. Nakatogawa H. Mechanisms governing autophagosome biogenesis // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2020. V. 21. P. 439-458. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0241-0>
18. Shemi A., Ben-Dor S., Vardi A. Elucidating the composition and conservation of the autophagy pathway in photosynthetic eukaryotes // Autophagy. 2015. V. 11. P. 701. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1034407>
19. Yoshimoto K., Ohsumi Y. Unveiling the molecular mechanisms of plant autophagy – from autophagosomes to vacuoles in plants // Plant Cell Physiol. 2018. V. 59. P. 1337. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy112>
20. Lai L.T.F., Ye H., Zhang W., Jiang L., Lau W.C.Y. Structural biology and electron microscopy of the autophagy molecular machinery // Cells. 2019. V. 8.

- P. 1627.  
<https://doi.org/10.3390/cells8121627>
21. *Bu F., Yang M., Guo X., Huang W., Chen L.* Multiple functions of ATG8 family proteins in plant autophagy // *Front. Cell. Dev. Biol.* 2020. V. 8. P. 466.  
<https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00466>
  22. *Gomez E.R., Joubès J., Valentin N., Batoko H., Satiat-Jeunemaître B., Bernard A.* Lipids in membrane dynamics during autophagy in plants // *J. Exp. Bot.* 2018. V. 69. P. 1287.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erx392>
  23. *Stephani M., Dagdas Y.* Plant selective autophagy - still an uncharted territory with a lot of hidden gems // *J. Mol. Biol.* 2019. V. 423. P. 63.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.06.028>
  24. *Marshall R.S., Hua Z., Mali S., McLoughlin F., Vierstra R.D.* ATG8-binding UIM proteins define a new class of autophagy adaptors and receptors // *Cell.* 2019. V. 177. P. 766.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.009>
  25. *Kleczkowski L.A., Igamberdiev A.U.* Magnesium signaling in plants // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. 1159.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22031159>
  26. *Patel A., Malinowska L., Saha S., Wang J., Alberti S., Krishnan Y., Hyman A.A.* ATP as a biological hydrotrope // *Science.* 2017. V. 356. P. 753.  
<https://doi.org/10.1126/science.aaf6846>
  27. *Pietrowska-Borek M., Dobrogojski J., Sobieszczuk-Nowicka E., Borek S.* New insight into plant signaling: extracellular ATP and uncommon nucleotides // *Cells.* 2020. V. 9. P. 345.  
<https://doi.org/10.3390/cells9020345>
  28. *Witte C.P., Herde M.* Nucleotide metabolism in plants // *Plant Physiol.* 2020. V. 182. P. 63.  
<https://doi.org/10.1104/pp.19.00955>
  29. *Gardeström P., Igamberdiev A.U.* The origin of cytosolic ATP in photosynthetic cells // *Plant Physiol.* 2016. V. 157. P. 367.  
<https://doi.org/10.1111/ppl.12455>
  30. *Семухатова О.А.* Роль исследований дыхания в развитии теории фотосинтетической продуктивности растений // *Бот. журн.* 1982. Т. 67. С. 1025.
  31. *Семухатова О.А.* Вопросы энергетических связей хлоропластов и митохондрий в темноте // *Физиология растений.* 1992. Т. 39. С. 606.
  32. *Igamberdiev A.U., Bykova N.V., Lea P.J., Gardeström P.* The role of photorespiration in redox and energy balance of photosynthetic plant cells: A study with a barley mutant deficient in glycine decarboxylase // *Physiol. Plant.* 2001. 111. P. 427.  
<https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1110402.x>
  33. *Gout E., Rébeillé F., Douce R., Bligny R.* Interplay of Mg<sup>2+</sup>, ADP, and ATP in the cytosol and mitochondria: Unravelling the role of Mg<sup>2+</sup> in cell respiration // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2014. V. 111. P. 4560.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1406251111>
  34. *De Col V., Fuchs P., Nietzel T., Elsässer M., Voon C.P., Candeo A., Seeliger I., Fricker M.D., Grefen C., Möller I.M., Bassi A., Lim B.L., Zancani M., Meyer A.J., Costa A., Wagner S., Schwarzländer M.* ATP sensing in living plant cells reveals tissue gradients and stress dynamics of energy physiology // *Elife.* V.18(6): e26770.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.26770>
  35. *Baena-González E., Sheen J.* Convergent energy and stress signaling // *Plant Sci.* 2008. V. 13. P. 474.  
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.06.006>
  36. *Tomé F., Nägele T., Adamo M., Garg A., Marco-Llorca C., Nukarinen E., Pedrotti L., Peviani A., Simeunovic A., Tatkiewicz A., Tomar M., Gamm M.* The low energy signaling network // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. P. 353.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00353>
  37. *Atkinson D.E.* The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers // *Biochemistry.* 1968. V. 7. P. 4030.  
<https://doi.org/10.1021/bi00851a033>
  38. *Hampp R., Goller M., Ziegler H.* Adenylate levels, energy charge, and phosphorylation potential during dark-light and light-dark transition in chloroplasts, mitochondria, and cytosol of mesophyll protoplasts from *Avena sativa* L. // *Plant Physiol.* 1982. V. 69. P. 448.  
<https://doi.org/10.1104/pp.69.2.448>
  39. *Lange P.R., Geseirick C., Tischendorf G., Zrenner R.* Functions of chloroplastic adenylate kinases in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2008. V. 146. P. 492.  
<https://doi.org/10.1104/pp.107.114702>
  40. *Igamberdiev A.U., Kleczkowski L.A.* Equilibration of adenylates in the mitochondrial intermembrane space maintains respiration and regulates cytosolic metabolism // *J. Exp. Bot.* 2006. V. 57. P. 2133.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erl006>
  41. *Liang C., Zhang Y., Cheng S., Osorio S., Sun Y., Fernie A.R., Cheung C.Y., Lim B.L.* Impacts of high ATP supply from chloroplasts and mitochondria on the leaf metabolism of *Arabidopsis thaliana* // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 922.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00922>
  42. *Igamberdiev A.U., Kleczkowski L.A.* Optimization of ATP synthase function in mitochondria and chloroplasts via the adenylate kinase equilibrium // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 10.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00010>
  43. *Kroemer S., Heldt H.W.* On the role of mitochondrial oxidative phosphorylation in photosynthesis metabolism as studied by the effect of oligomycin on photosynthesis in protoplasts and leaves of barley (*Hordeum vulgare*) // *Plant Physiol.* 1991. V. 95. P. 1270.  
<https://doi.org/10.1104/pp.95.4.1270>
  44. *Voon C.P., Guan X., Sun Y., Sahu A., Chan M.N., Gardeström P., Wagner S., Fuchs P., Nietzel T., Versaw W.K., Schwarzländer M., Lim B.L.* ATP compartmentation in plastids and cytosol of *Arabidopsis thaliana* revealed by fluorescent protein sensing // *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A.* 2018. V. 115. P. 10778.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1711497115>
  45. *Igamberdiev A.U., Kleczkowski L.A.* Implications of adenylate kinase-governed equilibrium of adenylates on contents of free magnesium in plant cells and compartments // *Biochem. J.* 2001. V. 360. P. 225.  
<https://doi.org/10.1042/0264-6021:3600225>
  46. *Margalha L., Confraria A., Baena-González E.* SnRK1 and TOR: modulating growth—defense trade-offs in

- plant stress responses // *J. Exp. Bot.* 2019. V. 70. P. 2261.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erz066>
47. *Baena-González E., Rolland F., Thevelein J.M., Sheen J.* A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signaling // *Nature.* 2007. V. 448. P. 938.  
<https://doi.org/10.1038/nature06069>
  48. *Nukarinen E., Nägele T., Pedrotti L., Wurzinger B., Mair A., Landgraf R., Börnke F., Hanson J., Teige M., Baena-Gonzalez E., Dröge-Laser W., Weckwerth W.* Quantitative phosphoproteomics reveals the role of the AMPK plant ortholog SnRK1 as a metabolic master regulator under energy deprivation // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 31697.  
<https://doi.org/10.1038/srep31697>
  49. *Baena-González E., Hanson J.* Shaping plant development through the SnRK1–TOR metabolic regulators // *Plant Biol.* 2017. V. 35. P. 152.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.12.004>
  50. *Crepin N., Rolland F.* SnRK1 activation, signaling, and networking for energy homeostasis // *Plant Biol.* 2019. V. 51. P. 29.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.03.006>
  51. *Martínez-Barajas E., Coello P.* How do SnRK1 protein kinases truly work? // *Plant Sci.* 2020. V. 291. 110330.  
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110330>
  52. *Ruiz-Gayosso A., Rodríguez-Sotres R., Martínez-Barajas E., Coello P.* A role for the carbohydrate-binding module (CBM) in regulatory SnRK1 subunits: the effect of maltose on SnRK1 activity // *Plant J.* 2018. V. 96. P. 163.  
<https://doi.org/10.1111/tpj.14026>
  53. *Rodrigues A., Adamo M., Crozet P., Margalha L., Confraria A., Martinho C., Elias A., Rabissi A., Lumberras V., González-Guzmán M., Antoni R., Rodriguez P.L., Baena-González E.* AB11 and PP2CA phosphatases are negative regulators of Snf1-related protein kinase1 signaling in Arabidopsis // *Plant Cell.* 2013. V. 25. P. 3871.  
<https://doi.org/10.1105/tpc.113.114066>
  54. *Van Dam T.-J., Zwartkruis F.J., Bos J.L., Snel B.* Evolution of the TOR pathway // *J. Mol. Evol.* 2011. V. 73. P. 209.  
<https://doi.org/10.1007/s00239-011-9469-9>
  55. *Morgutti S., Negrini N., Pucciariello C., Sacchi G.A.* Role of trehalose and regulation of its levels as a signal molecule to abiotic stresses in plants // *Plant Signal. Mol.* / Eds. Khan M.I.R., Reddy P. S., Ferrante A., Khan N.A. Woodhead Publishing, 2019. P. 581.  
<https://doi.org/10.1016/C2017-0-03384-0>
  56. *Qi H., Xia F.N., Xiao S.* Autophagy in plants: physiological roles and post-translational regulation. // *J. Integr. Plant Biol.* 2021 V. 63. P. 161.  
<https://doi.org/10.1111/jipb.12941>
  57. *Shi L., Wu Y., Sheen J.* TOR signaling in plants: conservation and innovation // *Development.* 2018. V. 145. P. 160887.  
<https://doi.org/10.1242/dev.160887>
  58. *Dong Y., Silbermann M., Speiser A., Forieri I., Linster E., Poschet G., Samami A.A., Wanatabe M., Sticht C., Teleman A.A., Deragon J.M., Saito K., Hell R., Wirtz M.* Sulfur availability regulates plant growth via glucose-TOR signaling // *Nat. Comm.* 2017. V. 8. P. 1174.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-01224-w>
  59. *O'Leary B.M., Oh G.G.K., Lee C.P., Millar A.H.* Metabolite regulatory interactions control plant respiratory metabolism via target of rapamycin (TOR) kinase activation // *Plant Cell.* 2020. V. 32. P. 666.  
<https://doi.org/10.1105/tpc.19.00157>
  60. *Janse van Rensburg H.C., Van den Ende W., Signorelli S.* Autophagy in plants: both a puppet and a puppet master of sugars // *Front. Plant Sci.* 2019. V. 10. P. 14.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00014>
  61. *Rabadanova C.K., Tyutereva E.V., Mackievic V.S., Demidchik V.V., Voitsekhovskaja O.V.* Cellular and molecular mechanisms controlling autophagy: a perspective to improve plant stress resistance and crop productivity // *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2018. V. 53. P. 881.  
<https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.5.881eng>
  62. *Izumi M., Hidema J., Ishida H.* Deficiency of autophagy leads to significant changes of metabolic profiles in Arabidopsis // *Plant Signal. Behav.* 2013. V. 8. P. e25023.  
<https://doi.org/10.4161/psb.25023>
  63. *Van der Wilden W., Herma E.M., Chrispeels M.J.* Protein bodies of mung bean cotyledons as autophagic organelles // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1980. V. 77. P. 428.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.77.1.428>
  64. *Toyooka K., Okamoto T., Minamikawa T.* Cotyledon cells of *Vigna mungo* seedlings use at least two distinct autophagic machineries for degradation of starch granules and cellular components // *J. Cell Biol.* 2001. V. 154. P. 973.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.200105096>
  65. *Wang Y., Zheng X., Yu B., Han S., Guo J., Tang H., Yu A.Y.L., Deng H., Hong Y., Liu Y.* Disruption of microtubules in plants suppresses macroautophagy and triggers starch excess-associated chloroplast autophagy // *Autophagy.* 2015. V. 11. P. 2259.  
<https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1113365>
  66. *Marty F.* Plant vacuoles // *Plant Cell.* 1999. V. 11. P. 587.  
<https://doi.org/10.1105/tpc.11.4.587>
  67. *Kazibwe Z., Liu A.Y., MacIntosh G.C., Bassham D.C.* The ins and outs of autophagic ribosome turnover // *Cells.* 2019. V. 8. P. 1603.  
<https://doi.org/10.3390/cells8121603>
  68. *Davies M.* Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 305. P. 761.  
[https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(03\)00817-9](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(03)00817-9)
  69. *Barros J.A.S., Cavalcanti J.H.F., Medeiros D.B., Nunes-Nesi A., Avin-Wittenberg T., Fernie A.R., Araújo W.L.* Autophagy deficiency compromises alternative pathways of respiration following energy deprivation in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol.* 2017. V. 175. P. 62.  
<https://doi.org/10.1104/pp.16.01576>
  70. *Ambrosio S., Majello B.* Autophagy roles in genome maintenance // *Cancers.* 2020. V. 12. P. 1793.  
<https://doi.org/10.3390/cancers12071793>
  71. *Nisa M.U., Huang Y., Benhamed M., Raynaud C.* The plant DNA damage response: signaling pathways lead-

- ing to growth inhibition and putative role in response to stress conditions // *Front. Plant Sci.* 2019. V. 10. P. 653.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00653>
72. Fan J., Yu L., Xu C. Dual role for autophagy in lipid metabolism in *Arabidopsis* // *The Plant Cell.* 2019. V. 31. P. 1598.  
<https://doi.org/10.1105/tpc.19.00170>
  73. Masclaux-Daubresse C., d'Andrea S., Bouchez I., Cascas J.-L. Reserve lipids and plant autophagy // *J. Exp. Bot.* 2020 V. 71. P. 2854.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/eraa082>
  74. Couso I., Perez-Perez M.E., Martinez-Force E., Kim H.-S., He Y., Umen J.G., Crespo J.L. Autophagic flux is required for the synthesis of triacylglycerols and ribosomal protein turnover in *Chlamydomonas* // *J. Exp. Bot.* 2018. V. 69. P. 1355.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erx372>
  75. Zhao L., Dai J., Wu Q. Autophagy-like processes are involved in lipid droplet degradation in *Auxenochlorella protothecoides* during the heterotrophy-autotrophy transition // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. P. 400.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00400>
  76. Sera Y., Hanamata S., Sakamoto S., Ono S., Kaneko K., Mitsui Y., Koyano T., Fufita N., Sasou A., Masumura T., Saji H., Nonomura K.I., Nitsuda N., Mitsui T., Kurusu T. et al. Essential roles of autophagy in metabolic regulation in endosperm development during rice seed maturation // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 18544.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-54361-1>
  77. Herman E.M., Larkins B.A. Protein storage bodies and vacuoles // *Plant Cell.* 1999. V. 11. P. 601.  
<https://doi.org/10.1105/tpc.11.4.601>
  78. Gifford D.J., Bewley J.D. An analysis of the subunit structure of the crystalloid protein complex from castor bean endosperm // *Plant Physiol.* 1983. V. 72. P. 376.  
<https://doi.org/10.1104/pp.72.2.376>
  79. Goto-Yamada S., Mano S., Yamada K., Oikawa K., Hosokawa Y., Hara-Nishimura I., Nishimura M. Dynamics of the light-dependent transition of plant peroxisomes // *Plant Cell Physiol.* 2015. V. 56. P. 1264.  
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcv081>
  80. Ren K., Feng L., Sun S., Zhuang X. Plant mitophagy in comparison to mammals: what is still missing? // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. 1236.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22031236>
  81. Dmitrieva V.A., Tyutereva E.V., Voitsekhovskaja O.V. Singlet oxygen in plants: generation, detection, and signaling roles // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 3237.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21093237>
  82. Olmedilla A., Sandalio L.M. Selective autophagy of peroxisomes in plants: from housekeeping to development and stress responses // *Front. Plant Sci.* 2019. V. 10. P. 1021.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01021>
  83. Otegui M.S. Vacuolar degradation of chloroplast components: autophagy and beyond // *J. Exp. Bot.* 2018. V. 69. P. 741.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erx234>
  84. Nakamura S., Hagihara S., Otomo K., Ishida H., Hidema J., Nemoto T., Izumi M. Autophagy contributes to the quality control of leaf mitochondria // *Plant Cell Physiol.* 2021. V. 62. P. 229.  
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcaa162>
  85. Kikuchi Y., Nakamura S., Woodson J.D., Ishida H., Ling Q., Hidema J., Jarvis R.P., Hagihara S., Izumi M. Chloroplast autophagy and ubiquitination combine to manage oxidative damage and starvation responses // *Plant Physiol.* 2020. V. 183. P. 1531.  
<https://doi.org/10.1104/pp.20.00237>
  86. Woodson J.D., Joens M.S., Sinson A.B., Gilkerson J., Salomé P.A., Weigel D., Fitzpatrick J.A., Chory J. Ubiquitin facilitates a quality-control pathway that removes damaged chloroplasts // *Science.* 2015. V. 350. P. 450.  
<https://doi.org/10.1126/science.aac7444>
  87. Xian H., Liou Y.C. Functions of outer mitochondrial membrane proteins: mediating the crosstalk between mitochondrial dynamics and mitophagy // *Cell Death Differ.* 2021. V. 28. P. 827.  
<https://doi.org/10.1038/s41418-020-00657-z>
  88. Onishi M., Yamano K., Sato M., Matsuda N., Okamoto K. Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy // *EMBO J.* 2021. V. 40. P. e104705.  
<https://doi.org/10.15252/embj.2020104705>
  89. Ma J., Liang Z., Zhao J., Wang P., Ma W., Andrade J.A.F., Zeng Y., Grujic N., Jiang L., Dagdas Y., Kang B.H. Friendly regulates membrane depolarization induced mitophagy in *Arabidopsis* // *bioRxiv preprint doi:*  
<https://doi.org/10.1101/2020.07.12.198424>
  90. Minibayeva F., Dmitrieva S., Ponomareva A., Ryabovol V. Oxidative stress-induced autophagy in plants: The role of mitochondria // *Plant Physiol. Biochem.* 2012. V. 59. P. 11.  
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.02.013>
  91. Rose R.J. Sustaining Life: maintaining chloroplasts and mitochondria and their genomes in plants // *Yale J. Biol. Med.* 2019. V. 923. P. 499.
  92. Lorimer G.H., Badger M.R., Andrews T.J. The activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase by carbon dioxide and magnesium ions. Equilibria, kinetics, a suggested mechanism, and physiological implications // *Biochemistry.* 1976 V. 15. P. 529.  
<https://doi.org/10.1021/bi00648a012>
  93. Sze H., Chanroj S. Plant endomembrane dynamics: studies of K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporters provide insights on the effects of pH and ion homeostasis // *Plant Physiol.* 2018. V. 177. P. 875.  
<https://doi.org/10.1104/pp.18.00142>
  94. Gaxiola R.A., Palmgren M.G., Schumacher K. Plant proton pumps // *FEBS Lett.* 2007. V. 581. P. 2204.  
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.03.050>
  95. Trono D., Laus M.N., Soccio M., Alfaro M., Pastore D. Modulation of potassium channel activity in the balance of ROS and ATP production by durum wheat mitochondria-an amazing defense tool against hyperosmotic stress // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 1072.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01072>
  96. Finazzi G., Petroustos D., Tomizjoli M., Flori S., Sautron E., Villanova V., Rolland N., Seigneurin-Berny D. Ions channels/transporters and chloroplast regulation // *Cell Calcium.* 2015. V. 58. P. 86.  
<https://doi.org/10.1016/j.ceca.2014.10.002>

97. Leigh R.A., Wyn Jones R.G. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell // *New Phytol.* 1984. V. 97. P. 1.
98. Armengaud P., Sulpice R., Miller T.J., Stitt M., Amtmann A., Gibbon Y. Multilevel analysis of primary metabolism provides new insights into the role of potassium nutrition for glycolysis and nitrogen assimilation in *Arabidopsis* roots // *Plant Physiol.* 2009. V. 150. P. 772.  
<https://doi.org/10.1104/pp.108.133629>
99. Demidchik V., Cuin T.A., Svistunenko D., Smith S.J., Miller A.J., Shabala S., Sokolik A., Yurin V. *Arabidopsis* root K<sup>+</sup>-efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death // *J. Cell Sci.* 2010. V. 123. P. 1468.  
<https://doi.org/10.1104/pp.108.133629>
100. Demidchik V., Tyutereva E.V., Voitsekhovskaja O.V. The role of ion disequilibrium in induction of root cell death and autophagy by environmental stresses // *Funct. Plant Biol.* 2018. V. 45 P. 28.  
<https://doi.org/10.1071/FP16380>
101. Floyd B.E., Pu Y., Soto-Burgos J. and Bassham D. To live or die: autophagy in plants // *Plant Programmed Cell Death.* 2015. P. 269.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-21033-9\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-319-21033-9_11)
102. Üstün S., Hafrén A., Hofius D. Autophagy as a mediator of life and death in plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2017. V. 40. P. 122.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.08.011>
103. Zhou L.L., Gao K.Y., Cheng L.S., Wang Y.L., Cheng Y.K., Xu Q.T., Deng X.Y., Li J.W., Mei F.Z., Zhou Z.Q. Short-term waterlogging-induced autophagy in root cells of wheat can inhibit programmed cell death // *Protoplasma.* 2021. V. 258. P. 891.  
<https://doi.org/10.1007/s00709-021-01610-8>
104. Van Doorn W.G., Beers E.P., Dangl J.L., Franklin-Tong V.E., Gallois P., Hara-Nishimura I., Jones A.M., Kawai-Yamada M., Lam E., Mundy J., Mur L.A.J., Petersen M., Smertenko A., Taliany M., Van Breusegem F. et al. Morphological classification of plant cell deaths // *Cell Death Differ.* 2011. V. 18. P. 1241.  
<https://doi.org/10.1038/cdd.2011.36>
105. Valandro F., Menguer P.K., Cabreira-Cagliari C., Margis-Pinheiro M., Cagliari A. Programmed cell death (PCD) control in plants: New insights from the *Arabidopsis thaliana* deathosome // *Plant Science.* 2020. V. 299. P. 110603.  
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110603>
106. Hofius D., Munch D., Bressendorff S., Mundy J., Petersen M. Role of autophagy in disease resistance and hypersensitive response-associated cell death // *Cell Death Differ.* 2011. V. 18. P. 1257.  
<https://doi.org/10.1038/cdd.2011.43>
107. Hackenberg T., Juul T., Auzina A., Gwiżdż S., Małolepszy A., Van Der Kelen K., Dam S., Bressendorff S., Lorentzen A., Roepstorff P., Nielsen K.L., Jørgensen J.-E., Hofius D., Van Breusegem F., Petersen M. et al. CAT and NO CAT ACTIVITY1 promote autophagy-dependent cell death in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2013. V. 5. P. 4616.  
<https://doi.org/10.1105/tpc.113.117192>
108. Tyutereva E.V., Dobryakova K.S., Schiermeyer A., Shishova M.F., Pawlowski K., Demidchik V., Reumann S., Voitsekhovskaja O.V. The levels of peroxisomal catalase protein and activity modulate the onset of cell death in tobacco BY-2 cells via reactive oxygen species levels and autophagy // *Funct. Plant Biol.* 2018. V. 45. P. 247.  
<https://doi.org/10.1071/FP16418>
109. Teper-Bamnlker P., Danieli R., Peled-Zehavi H., Be-laousov E., Abu-Abied M., Avin-Wittenberg T., Sadot E., Eshel D. Vacuolar processing enzyme translocates to the vacuole through the autophagy pathway to induce programmed cell death // *Autophagy.* 2020. V. 19. P. 1.  
<https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1856492>
110. Voitsekhovskaja O.V., Schiermeyer A., Reumann S. Plant peroxisomes are degraded by starvation-induced and constitutive autophagy in tobacco BY-2 suspension-cultured cells // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. P. 629.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00629>