

УДК 581.1

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗАХ РАСТЕНИЙ

© 2022 г. Л. А. Ломоватская^а, *, О. В. Кузакова^а, А. С. Романенко^а

^аФедеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений
Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия

*e-mail: LidaL@sifibr.irk.ru

Поступила в редакцию 07.09.2021 г.

После доработки 13.10.2021 г.

Принята к публикации 18.10.2021 г.

Существование аденилатциклаза у растений долгое время считалось недоказанным и лишь в последние два десятилетия появились новые сведения, уточняющие как биохимические свойства фермента, так и данные о его молекулярной структуре. Поэтому в обзоре обсуждаются особенности функционирования растительных аденилатциклазов в мультимолекулярных комплексах и физиологическое значение этого феномена в реакциях растений на стрессы. Рассматриваются проблемы поиска и успехи в расшифровке нуклеотидных последовательностей аденилатциклаза растений.

Ключевые слова: аденилатциклазы растений, мультиферментный комплекс, нуклеотидные последовательности аденилатциклаза растений

DOI: 10.31857/S0015330322020117

ВВЕДЕНИЕ

В любой сигнальной системе ее эффективность в значительной степени зависит от фермента-триггера сигнала. Для аденилатциклазной системы клеток растений таким ферментом является аденилатциклаза, синтезирующая циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), который участвует в каскаде последующих сигнальных событий, включающих трансдукцию внеклеточного сигнала в генетический аппарат клетки, и обеспечивающий регуляцию таких фундаментальных физиологических процессов как рост и развитие, дифференциация, метаболизм, апоптоз и другие функции [1, 2]. Таким образом, цАМФ, в числе других вторичных мессенджеров (кальций, H_2O_2 , NO и др.), обеспечивает своевременную реакцию растительного организма на изменяющиеся условия внешней среды. Для поддержания оптимальных концентраций этой сигнальной молекулы у растений также функционирует фосфодиэстераза, преобразующая цАМФ в нециклическую неактивную форму. Регуляция активности этого фермента не менее сложна и многообразна [3, 4], и заслуживает отдельного обзора.

Исторически так сложилось, что интерес к исследованию аденилатциклаза у животных и человека пришелся, в основном, на вторую половину

XX века, когда в 1958 г. E. Sutherland с коллегами впервые обнаружили цАМФ в клетках печени животных [5]. Наиболее важные сведения, касающиеся структурных и биохимических особенностей АЦ животных, были получены в конце 90-х годов прошлого столетия [6, 7].

У растений существование аденилатциклазной сигнальной системы, и, в частности, аденилатциклаза, долгое время ставилось под сомнение [8, 9], а затем, до начала XXI столетия, основной упор в исследованиях делался на биохимические свойства фермента [10, 11]. Если структура генов АЦ животных была уже известна в конце 90-х годов прошлого века [12], то АЦ растений до сих пор остаются в некотором смысле “*terra incognita*”, а сведения о нуклеотидных последовательностях их генов до сих пор носят неполный характер [2, 13].

Целью настоящего обзора явилось изложение современных представлений о сходстве и различиях в молекулярной структуре и свойствах АЦ растений и животных, а также об их роли в стрессовых ответах растений.

Классификация и краткая характеристика аденилатциклаза про- и эукариот

Аденилатциклаза (АТФ-пирофосфатлиаза циклизующая КФ 4.6.1.1) катализирует следующую реакцию:



Сокращения: АЦ – аденилатциклаза; АСС – аденилатциклазная сигнальная система; цАМФ – циклический аденозинмонофосфат.

Несмотря на то, что аденилатциклаза во всех объектах выполняет одну и ту же функцию и использует один и тот же субстрат, она имеет значительные различия в регуляции у разных видов живых организмов [14, 15]. По этой причине все аденилатциклазы на основании сходства аминокислотных последовательностей их каталитических доменов делят на несколько классов (табл. 1). Поскольку в этой классификации микроорганизмы занимают весьма значительный объем, и сведения об особенностях АЦ у этих организмов постоянно обновляются, существующие классификации подвергаются пересмотру. На сегодняшний день АЦ животных и микроорганизмов сгруппированы в шесть классов, основанных на гомологии последовательностей внутри их каталитических доменов [16, 17]. АЦ из *Escherichia coli* и некоторых грамотрицательных прокариотов вошли в класс I. Класс II охватывает “токсиновые” АЦ из таких патогенов, как *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella pertussis*, *Bacillus anthracis* [18, 19]. Эти циклазы являются секретлируемыми ферментами, которые переносятся в хозяйские клетки, где разрушают внутриклеточный сигналинг путем наполнения клеток хозяина сверхфизиологическими концентрациями цАМФ [20]. АЦ эукариотов и гуанилатциклазы отнесены к классу III, наиболее обширному, куда входят представители бактериального и животного царств [17]. Классы IV, V и VI выделены сравнительно недавно и включают один или несколько прокариотических членов [21] (табл. 1).

Несмотря на то, что все шесть классов широко представлены у прокариот, все АЦ эукариот – как одноклеточных, так и многоклеточных – возникли из бактериальных АЦ, относящихся также к классу III [22]. По своей локализации в клетке АЦ класса III делятся на две большие группы – трансмембранные формы фермента, представляющие собой белковые молекулы, один раз или более пронизывающие плазматическую мембрану, и растворимые (цитозольные) его формы [15, 23]. Для ознакомления со структурными и функциональными особенностями этого фермента из других классов рекомендуем обратиться к обзору Baker и Kelly [19].

Краткая характеристика АЦ животных

Трансмембранные аденилатциклазы (тАЦ) III класса биохимически и структурно хорошо изучены у бактерий, животных и человека [6, 19, 20, 23]. Краткая характеристика АЦ животных, изложенная в этом разделе, позволяет получить общее представление об их биохимических свойствах и особенностях структуры, а также дает информацию для сравнения их с АЦ растений.

Для катализа АЦ в качестве кофактора требуется металл, обычно Mg²⁺ или Mn²⁺. Их каталити-

Таблица 1. Классификация аденилатциклаз про- и эукариот

Класс АС	Название класса	Представители класса	Литература
I	Энтеробактериальный	Бактерии: <i>Escherichia coli</i> ; <i>Proteus mirabilis</i> ; <i>Salmonella typhimurium</i> ; <i>Vibrio cholera</i> ; <i>Erwinia chrysanthemi</i>	[16]
II	Токсины	Бактерии: <i>Bacillus anthracis</i> ; <i>Bordetella pertussis</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[18], [19]
III	Универсальный	Бактерии: <i>Corynebacterium liquefaciens</i> ; <i>Rhizobium meliloti</i> ; животные и человек; предположительно растения	[20], [23]
IV	Не имеет названия	Бактерии: <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Yersinia pestis</i>	[16]
V	Не имеет названия	Бактерии: <i>Prevotella ruminicola</i>	[21]
VI	Не имеет названия	Бактерии: <i>Rhizobium etli</i> ; <i>Mesorhizobium loti</i> ; <i>Sinorhizobium meliloti</i>	[21]

ческий сайт формируется димеризацией двух доменов (С1 и С2) по типу голова–хвост. Поскольку эти домены схожи друг с другом, но не идентичны, они создают только один активный сайт. Согласно кристаллической структуре, второй (псевдо-симметричный) сайт занят активатором АЦ, форсколином. Необходимые для катализа два атома металла координируются двумя консервативными остатками аспартата, присутствующими в домене С1, а переходное состояние стабилизируется необходимой для этого парой аспарагин–аргинин, локализованной в домене С2 [23]. У животных и человека известно девять изоформ тАЦ, имеющих специфическую локализацию в

определенных органах и тканях и имеющих различную чувствительность к ионам кальция [24].

Растворимая аденилатциклаза (рАЦ) клеток животных была подробно исследована в последние два десятилетия, когда большая часть основополагающих работ была выполнена на экстрактах из яичек крыс [22, 25]. В отличие от тАЦ, биохимическая активность рАЦ, как правило, зависит только от двухвалентного катиона Mn^{2+} , нечувствительна к регуляции G-белками, форсколином и проявляется более низкую (примерно в 10 раз) аффинность к субстрату (АТФ).

Отличительной чертой рАЦ является наличие у нее Р-петли, связывающей АТФ [26]. Кроме того, в С-концевой части рАЦ есть аминокислотная последовательность с высоким содержанием лейцина, так называемый потенциал лейциновой заставки или домен спираль—спирального взаимодействия [22, 27, 28]. Есть предположение, что этот участок необходим для прикрепления рАЦ к цитоскелету [22, 29]. По данным Zippin с соавт. [30], рАЦ в клетках животных локализована в различных внутриклеточных компартментах и структурах — в митохондриях, центриолях, митотическом веретене, срединных пластинках и ядре.

Аденилатциклазы растений: свойства фермента и участие в стрессовых ответах

Поскольку исследования свойств и структуры АЦ у растений значительно отстают по времени и эффективности от таковых у животных, сведения об аденилатциклазах долго носили скудный, а зачастую и противоречивый характер [31–34]. Однако в последнее десятилетие появилось довольно много работ, где достоверно, с применением методов генетической инженерии, доказывалось существование АЦ у растений. Пожалуй, неоспоримым сходством АЦ животных и растений является их субстратная специфичность — АТФ и металлы-кофакторы (Mn^{2+} , Mg^{2+}) [35], а также активаторы (NaF , Ca^{2+}) [36].

Для растений нет литературных данных по изоферментному составу АЦ, но известно, что одни и те же агенты (Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+}) могут оказывать различный, а зачастую и противоположный эффект на активность трансмембранной АЦ растений [33, 35]. Этот факт косвенно указывает на присутствие у растений нескольких изоформ тАЦ. Согласно литературным данным, оптимум рН тАЦ растений имеет значительный разброс: показана форма тАЦ с оптимумом активности при рН 4.8–5.2 и в то же время есть сведения об изоформе, наиболее активной в щелочной области (рН 8.8) [37].

По растворимой АЦ растений в литературе имеется еще более противоречивая информация. Так, из корней люцерны (*Medicago sativa*) была

выделена фракция растворимой АЦ и частично изучены ее свойства [33]. Как оказалось, аденилатциклазная активность, измеренная в присутствии $MgATP$ в качестве субстрата, стимулировалась ионами Ca^{2+} и кальмодулином. Гуанозин-5'-[β -имида]трифосфат (ГТФ), форсколин, фторид и холерный токсин (общеизвестные модуляторы трансмембранной АЦ животных) не активировали этот фермент. Существует и противоположное мнение [38]: авторы, проведя анализ соответствующей базы данных и сравнительное изучение геномов многих про- и эукариот, сделали вывод, что у арабидопсиса и, очевидно, у растений вообще рАЦ отсутствует. В определенной мере такой вывод можно объяснить тем, что гены АЦ у растений могут быть замаскированы среди широкого спектра больших семейств генов, в частности, R-генов, которых насчитывается, например, в арабидопсисе 200–300, а в рисе — порядка 1500 [39].

В связи с тем, что АЦ растений является частью сигнальной системы, весьма значительное влияние на ее активность оказывают факторы окружающей среды как абиотической, так и биотической природы. Есть сведения, что низкая температура [40], экзогенные фитогормоны [41], свет [40], а также вирусы, грибные и бактериальные метаболиты, весьма существенно влияют на изменение концентрации эндогенного цАМФ [42, 43], что косвенно свидетельствует о модулировании активности АЦ. Прямые доказательства активации АЦ были получены Gasumov с соавт. [34], которые выявили светоиндуцируемую трансмембранную и растворимую АЦ у растений, соответственно. АЦ в мембранной фракции проявляла сезонные изменения в активности по отношению к красному и дальнему красному свету, а фракция, содержащая растворимую АЦ, оказалась чувствительна как к красному, так и к дальнему красному свету и не меняла ее в зависимости от сезона. У одноклеточных водорослей *Euglena gacilis* [44] и *Microcoleus sp.* [45] обнаружены фотоактивируемые аденилатциклазы, которые являются рецепторным флавопротеином. Авторы полагают, что поскольку данная АЦ может активироваться в широком световом диапазоне, она необходима для адаптации. Весьма активно растительные АЦ, вероятнее всего тАЦ, реагируют на экзогенные фитогормоны [46]. Так, показано, что при добавлении экзогенного гиббереллина через активацию тАЦ происходил не только усиленный синтез цАМФ [47], но также активация белковых цАМФ-зависимых обменных факторов [41]. Интересно, что аналогичный эффект у арабидопсиса наблюдался и под влиянием солевого и холодового стрессоров [1]. Показано, что увеличение уровня гиббереллина в проростках *Orobanche minor* приводило к существенному возрастанию концентрации цАМФ, что, вероятно, тоже связано с активацией тАЦ [48].

Как правило, при биотических стрессах под воздействием PAMP/МAMP бактериальных и грибных фитопатогенов, активируются сигнальные системы клеток растений и запускаются защитные механизмы с участием соответствующих вторичных мессенджеров. В этом принимают участие специфические/неспецифические рецепторы растительных клеток, передающие сигналы на GPCRs (G-protein-coupled receptors complexis) [49]. Можно полагать, что активность тАЦ растений также регулируется подобным образом, поскольку показано, что под воздействием экзополисахаридов *Clavibacter michiganensis* sp. *sepedonicus* (*Cms*) активность тАЦ в клетках растений картофеля *in vitro* возрастала или снижалась в зависимости от устойчивости сорта картофеля, а добавление к мембранной фракции, содержащей тАЦ сурамина, разобщителя связи “рецептор—G белок”, снижало ее активность более, чем на 90% [36]. Кроме того, показано, что активность АЦ из клеток *Nicotiana benthamiana* повышалась при инфицировании *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, что существенно уменьшало количество симптомов программируемой клеточной смерти [50]. Инокуляция тканей *Hippeastrum × hybridum* грибным патогеном *Phoma narcissi* приводила не только к повышению концентрации цАМФ, но и к увеличению транскрипционного уровня РНК АЦ. Авторы полагают, что это является одной из защитных реакций растений на нарушения целостности симпласта и апопласта [51]. Под воздействием PAMP *Pseudomonas syringae* в листьях *Arabidopsis* повышался уровень цАМФ, что способствовало развитию защитных реакций [52]. Аналогичные результаты были получены при изучении действия элиситора из *Colletotrichum lindemuthianum* на суспензионную культуру клеток *Phaseolus vulgaris* [53]. В работе Jiang с соавт. [43] показано, что увеличение уровня синтеза салициловой кислоты в растениях арабидопсиса при инфицировании *Verticillium* является следствием усиления активности АЦ, что может приводить к усилению защитных реакций растений. Также в арабидопсисе был обнаружен белок, имеющий помимо АЦ каталитического центра последовательность NB-ARC (nucleotide-binding domain shared with DPAF-1) и домен LRR (leucine-rich repeat), которые присущи PR-белкам и определяют устойчивость растений к патогенам. Показано, что активность АЦ в составе этого белка повышалась при инфицировании арабидопсиса биотрофным грибом *Golovinomyces orontii* и гембиотрофной бактерией *Pseudomonas syringae*, но не при контакте с некротрофным грибом *Botrytis cinerea* [54]. Авторы полагают, что такая реакция АЦ связана с особенностями эффекторных молекул биотрофных патогенов, которые воспринимаются PR-белками растений [54].

Кроме непосредственной модуляции с помощью GPCRs, активность АЦ растений, так же как и АЦ животных [23], может меняться под воздействием ионов кальция. Ruzvidzo с соавт. [13] выявили активацию рекомбинантного белка из арабидопсиса с активностью АЦ 100 μM CaCl_2 , тогда как Chatukuta с соавт. [55] выявили в эндоцитозных пузырьках в клетках арабидопсиса рекомбинантный домен АЦ (AtCIAP261–379), который существенно активировался 250 μM CaCl_2 .

Интересно, что присутствие аденилатциклаз было обнаружено и в некоторых внутриклеточных компартментах растений. Активность аденилатциклаз была выявлена в изолированных хлоропластах шпината [56], в межмембранном пространстве и в стромах хлоропластов клеток *Nicotiana tabacum* и арабидопсиса [57, 58]. Двумя независимыми авторами локализация АЦ была выявлена в митохондриях клеток арабидопсиса [13] и кукурузы [46], где показано ее участие в проведении сигналов при стрессах.

Многие литературные данные свидетельствуют о том, что АЦ у растений функционируют в составе мультибелковых комплексов, что принципиально отличает их от АЦ животных (табл. 2). Такие мало консервативные АЦ содержат только ключевые остатки каталитических центров, позволяющие сохранять их функции. Возможно, что это произошло в результате дивергентной эволюции [59, 60]. Так, Al-Younis с соавт. [61] выявили в K^+ -зависимой пермеазе 7 (AtKUP7) N-концевой цитозольный домен AtKUP71-100 с активностью АЦ. Встраивание данной последовательности в мутант *Escherichia coli*, дефицитный по *suA* (аденилатциклаза), восстанавливало ферментацию лактозы, что невозможно без соответствующего уровня внутриклеточного цАМФ [61]. В эндоцитозных пузырьках в составе клатринового белкового комплекса были выявлены нуклеотидные последовательности, соответствующие каталитическому центру АЦ: AT1G68110 и AtCIAP. Полагают, что цАМФ необходим в интернализации патогенных эффекторов в эндоплазматическую сеть и вакуоль растительных клеток [55]. В *Marchantia polymorpha* (мох печеночник) была обнаружена нетипичная аденилатциклаза, которая помимо стандартного C-домена, характерного для III класса АЦ, имеет N-концевой домен, представляющий собой фосфодиэстеразу [62, 63]. Этот рекомбинантный белок кодируется геном *MpCAPE* (COMBINED AC with PDE). Наиболее высокая его активность была найдена в органах размножения этого растения — антеридиумах. Обе группы авторов считают, что этот белок необходим для регуляции репродуктивного процесса в растениях с мужскими гаметофитами. Весьма интересным представляется сообщение о том, что в *Arabidopsis thaliana* выявлен ген *At3g14460*, кодирующий бе-

Таблица 2. Экспериментально подтвержденные фрагменты молекулы АЦ растений из базы NCBI

Вид растения	№ в NCBI	Роль в метаболизме и стрессовых реакциях растений	Литература
<i>Zea mays</i>	CAC59976.1	Отвечает за рост пыльцевой трубки	[39]
<i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_176447.1 pentatricopeptide repeat protein	Мотив каталитического центра АЦ. Отвечает за взаимодействие с РНК и облегчение ее процессинга	[13]
<i>Nicotiana benthamiana</i>	ACR77530.1	Отвечает за табтоксин- β -лактам-индуцированную клеточную смерть и развитие симптомов заболевания	[50]
<i>Hippeastrum x hybridum</i>	ADM83595.1 hybridum adenylyl cyclase protein	Участие в системной реакции, индуцированной разрушением симпласта и апопласта <i>Phoma narcissi</i>	[51]
<i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_568213.2	Рекомбинантная K^+ -пермеаза. Выполняет роль молекулярного переключателя с одной сигнальной системы на другую	[61]
<i>Marchantia polymorpha</i>	PTQ35772.1	Представляет пример сложного многодоменного растительного белка, способного регулировать клеточный уровень цАМФ	[62]
<i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_564922.1 Clathrin assembly protein	Защита от патогена и ремоделирование актинового цитоскелета в течение эндцитозной интернализации	[55]

лок, богатый лейциновыми повторами, который содержит четыре различных каталитических центра АЦ, пространственно распределенных по всему белку. Эти центры были названы как АС1, АС2, АС3 и АС4, соответственно, и индивидуально испытаны на каталитическую активность, которая у всех оказалась весьма высокой. Кроме того, оказалось совсем неожиданным, что в клетках *A. thaliana* содержатся еще пять других белков с несколькими центрами АЦ: At1g01040 с 5, At1g62590 с 3, At2g34780 с 13, At3g18035 с 2, и At5g57690. Можно полагать, что это растворимая форма АЦ, поскольку Mn^{2+} значительно ее активировал, а Ca^{2+} при этом дополнительно усиливал эту активацию [13, 64]. Еще одним примером функционирования АЦ в сложных белковых ком-

плексах является белок NCED3, представляющий собой 9-цис-эпоксикаротиноид диоксигеназу, в котором присутствует активный аденилатциклазный домен. Этот белок локализован в хлоропластах и является ключевым компонентом биосинтеза абсцизовой кислоты, обязательного участника стрессовых ответов растений [58, 61]. Также недавно был охарактеризован белок ZmRPP13-LK3 в кукурузе, который не только обладает активностью АЦ, сопоставимой с AtNCED3, но и участвует в АБК-опосредованной устойчивости к тепловому стрессу [46]. Авторы показали, что активность ZmRPP13-LK3 и уровень цАМФ уменьшаются в мутанте кукурузы, дефицитном по биосинтезу АБК. С точки зрения теории сигнальных микродоменов, принятой для клеток животных [17], низкая активность АЦ в составе

таких ферментных комплексов у растений вполне объяснима, так как цАМФ действует *in situ*, не диффундируя на значительные расстояния. Общеизвестно, что цАМФ способствует фосфорилированию соответствующих белков — компонентов сигнальных каскадов. Однако есть данные о том, что цАМФ участвует в ингибировании фосфорилирования белков, в частности белков в составе светособирающего комплекса хлоропластов [65]. Таким образом, АЦ в составе сложных молекулярных комплексов могут функционировать и во внутриклеточных сигнальных микродоменах растений. На фоне большого объема исследований, подтверждающих присутствие АЦ у растений, появляются отдельные работы, опровергающие этот факт [66]. Авторы, обнаружив весьма низкую активность АЦ в белке HрАС1 из *Hippeastrum hybrid cultivars*, полагают, что он относится к полифосфатазам, а синтез цАМФ является его “побочной” функцией. Опираясь на эти результаты, авторы заявляют, что у высших растений АЦ отсутствуют вообще и, следовательно, аденилатциклазная сигнальная система не имеет права на существование. На наш взгляд, результаты, полученные этими авторами, напротив, еще раз подтверждают гипотезу о функционировании АЦ растений в составе мультибелковых комплексов, и низкая аденилатциклазная активность исследуемого белка только подтверждает это. Упомянутая статья Kleinboelting с соавт. [66] ставит под сомнение данные, полученные ранее Swiezawska с соавт. По нашему мнению, результаты В. Swiezawska с соавт., полученные с применением высокотехнологичных генетических и биохимических методов, заслуживают доверия и вносят существенный вклад в понимание особенностей и разнообразия молекулярной структуры АЦ растений. Более подробно эти результаты обсуждаются в следующем разделе обзора.

По мнению Ruzvidzo с соавт. [13], мультидоменные АЦ могут образовывать внутримолекулярные димеры, что в свою очередь должно влиять на каталитическую активность и, следовательно, на эффективность цАМФ-зависимого сигнального пути [13]. Открытие белков одного типа с множественными каталитическими центрами АЦ вызывает новые вопросы и предположения: могут ли эти каталитические центры аккумулятивно увеличивать активность АЦ, усиливая друг друга? Или функционируют ли эти центры одновременно? Не “маскируют” ли такие белки различные изоформы АЦ? Это требует дальнейших исследований *in vivo* и *in planta*.

Поиски нуклеотидных последовательностей аденилатциклаз растений

При современном уровне развития науки для полной характеристики фермента недостаточно

данных только о его физиологических и биохимических свойствах. В последние годы, с помощью методов геномной инженерии получены новые сведения о нуклеотидной и аминокислотной последовательностях АЦ растений. Как показали поиски в различных базах данных и литературных источниках, сходства растительных АЦ с АЦ животных по аминокислотным последовательностям не обнаружено [4].

Е. Gehring в 2010 г., опираясь на исследование гуанилатциклаз из арабидопсиса, содержащих 14 аминокислот в конечном фрагменте каталитического центра, предпринял попытку провести аналогичный анализ для аденилатциклаз растений [67]. В модифицированном поиске мотивов АЦ аминокислотные остатки, которые обеспечивают субстратную специфичность, были заменены на аминокислоты [DE]. Это было сделано потому, что коровый мотив внутри каталитического центра состоит из функционально определенных остатков, к которым присоединяется водород от аденина, а также аминокислот, которые обеспечивают субстратную специфичность для АТФ и стабилизируют переход из АТФ в цАМФ. Таким образом, мотив ([RKS]X[DE]X(9,11)[KR]X(1,3)[DE]), считающийся фрагментом АЦ, действительно оказался представлен в АЦ кукурузы (AJ307886.1), и в ортологе *Sorghum bicolor* (gb | EER90437.1), а также в классе белков арабидопсиса, содержащем NBS-LRR ($2e^{-70}$). В арабидосисе Е. Gehring обнаружил аннотированные, но функционально недоказанные АЦ (At1g26190, At1g73980 и At2g11890) (TAIR: www.arabidopsis.org) и все они действительно содержат мотив ([RKS]X[DE]X(9,11)[KR]X(1,3)[DE]). Однако автор отмечает, что присутствия такого мотива, строго говоря, не достаточно, чтобы идентифицировать кандидатов АЦ *ab initio* с любой разумной степенью достоверности [67]. Для того, чтобы получить более надежные результаты, был использован расширенный АЦ мотив, который является специфичным для связывания АТФ, а не для ГТФ с С-терминальным металл-связывающим остатком ([RK][YFW][DE][VIL][FV]X(8)[KR]X(1,3)[DE]). Этот расширенный мотив позволил автору определить девять предполагаемых АЦ в арабидосисе. Они включают два белка (At3g28223 и At4g39756) и toll-интерлейкиновый рецептор (TIR) NBS-LRR (At3g04220), участвующие в защитных реакциях растений [68]. В связи с этим следует заметить, что АЦ с NBS-LRR доменами обнаружены и в кукурузе [39], где АЦ структурно похожа на растительные TIR-NBS-LRR белки устойчивости к болезням, и в тополе *Populus trichocarpa* (ADB66335.1, $4e^{-76}$) [69]. По мнению Wong и Gehring, [68], поиск в системе <http://www.panterdb.org> для библиотеки белковых семейств и суперсемейств, индексированных по функциям, указывает на присутствие в арабидосисе 83 позиций с онтологами генов следующих категорий: процессы иммунной систе-

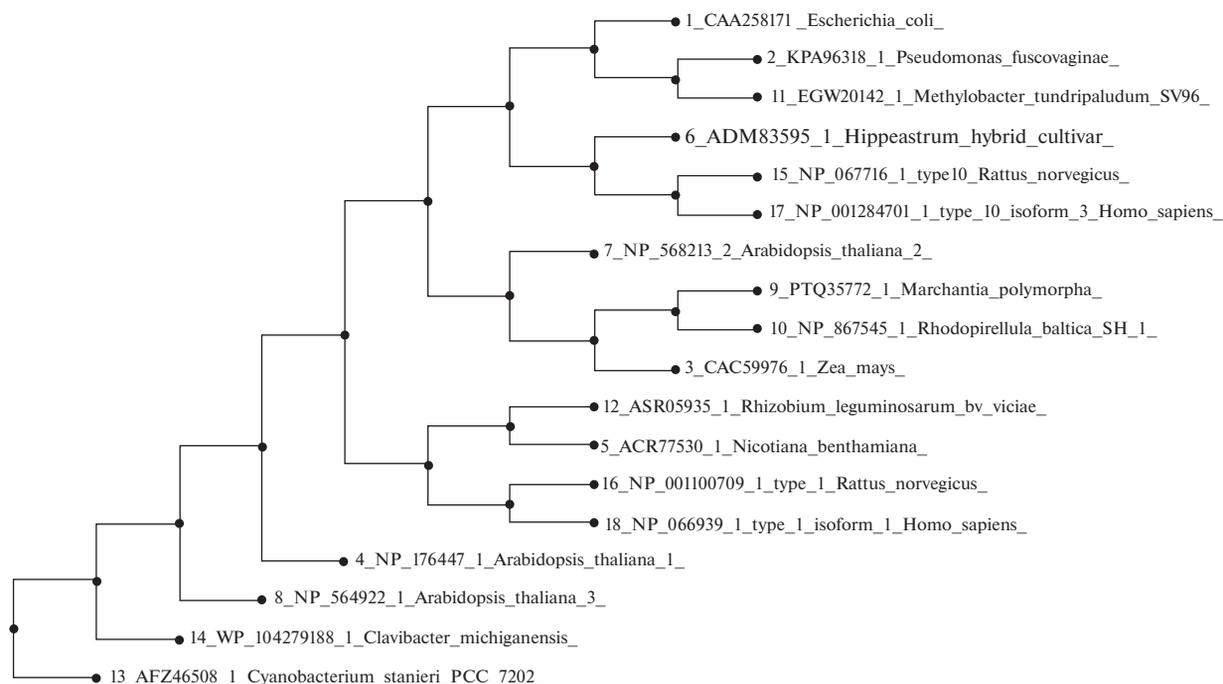


Рис. 1. Филогенетическое дерево, отражающее эволюционные взаимосвязи и степень родства АЦ растений с аналогичным ферментом из организмов – представителей других царств. Аминокислотные последовательности АЦ получены из базы данных NCBI, филогенетическое дерево построено в программе MAFFT (multiple alignment program for amino acid or nucleotide sequences), версия 7.

мы, рецепторы клеточной поверхности, связанные с передачей сигнала, внутриклеточный сигнальный каскад, метаболические процессы нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Таким образом, предложенный метод *in silico* E. Gehring очерчивает довольно широкий круг претендентов на роль АЦ, но не дает точного представления об их нуклеотидных последовательностях. Другие авторы [13], используя мотив (At3g21465, BLAST) (14 аминокислотных остатков) из арабидопсиса, выделили АЦ-подобный белок. Из *Hippeastrum × hybridum* был выделен, клонирован и охарактеризован новый ген аденилатциклазы, названный *HrAC1* [51]. Этот ген кодирует белок, состоящий из 206 аминокислот с рассчитанной молекулярной массой 23 кДа. Предсказанная аминокислотная последовательность содержит все типичные признаки и имеет высокую идентичность с предполагаемыми АЦ растений. Очищенный рекомбинантный белок *HrAC1* способен конвертировать АТФ в цАМФ. Кроме того, авторы показали, что уровень транскрипта *HrAC1* и концентрация цАМФ изменялись в условиях стресса. По-видимому, АЦ в *Hippeastrum* является цитозольным белком, поскольку *in silico* анализ алгоритма с помощью программы SOSUI не показал присутствие трансмембранной последовательности внутри *HrAC1*. Такой вывод был подтвержден биохимически, когда активатор трансмембранной АЦ, фторид натрия, не оказал влияния на об-

суждаемый фермент. При этом *HrAC1* имеет гомологию с аналогичными белками из мха (*Physcomitrella patens*) и водорослей (*Chlorella variabilis*, *Volvox carteri*, *Chlamidomonas reinhardtii* и *Coccomyxa subellipsoidea*), а также с многими АЦ из грамположительных бактерий (стрептококки, бациллус, энтерококки и стафилококки) [51].

Имеющийся на сегодняшний день массив данных по аминокислотным последовательностям АЦ растений позволил нам построить филогенетическое дерево, отражающее эволюционные взаимосвязи и степень родства АЦ растений с аналогичным ферментом из организмов – представителей других царств (рис. 1). Первичные данные были получены из базы данных NCBI, где представлены аминокислотные последовательности белков или их фрагментов, обладающие активностью АЦ. Несмотря на то, что у растений АЦ, как правило, представлены фрагментами в составе других белков, они также были привлечены для сравнительного анализа, так как полностью сохраняют функции фермента, характерные для АЦ и подтвержденные экспериментально (табл. 2).

Анализ показал, что цианобактерии (*Cyanobacterium stanieri*) являются наиболее ранним носителем гена АЦ, что вполне объяснимо, поскольку, вероятно, они являются прародителями высших растений. Весьма возможно, что ген АЦ был получен арабидопсисом (*Arabidopsis thaliana*)

в процессе эндосимбиоза, где претерпел дальнейшие мутации, в результате чего три АЦ арабидопсиса оказались на разных уровнях дерева: WP_104279188 и NP_564922 локализованы в самом его начале, образуя только по одной внутренней ветви, тогда как NP_568213 находится довольно далеко от них, образуя одиночную внешнюю ветвь в составе кластера. Это дает основание предполагать, что две первые АЦ эволюционно являются более ранними, а третья АЦ сформировалась намного позже и должна иметь некоторое сходство с АЦ из *Marchantia polymorpha* (PTQ35772) и *Zea mays* (CAC59976). Интересно, что в одном кластере со мхом *Marchantia polymorpha* и высшим растением *Zea mays* находится и АЦ из бактерии *Rhodopirella baltica* SH (NP867545). При этом АЦ из мха и бактерии образуют две внешние ветви из одного внутреннего узла, что вероятно, также является результатом эндосимбиоза, но, при этом, АЦ из высшего растения кукурузы претерпела большее количество мутаций, что и нашло отражение в ее положении в филогенетическом дереве. Аналогичная дивергенция в двух ветвях в одном кластере АЦ из *Nicotiana benthamiana* (ACR77530) и *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (ASR05935) еще раз подтверждает теорию эндосимбиоза бактерий и растений. АЦ из *Hipperastrum hybrid cultivar* (AQDM83596) находится дальше всех на филогенетическом дереве и входит в один кластер с *Rattus norvegicus* (NP 067716) и *Homo sapiens* (NP001284701), хотя они локализованы на внешних ветвях. Поскольку АЦ упомянутых млекопитающих представлены 10 растворимыми изоформами [30], можно предположить, что и *Hipperastrum hybrid cultivar* содержит растворимую АЦ. Это подтверждается и данными Świeżawska с соавт. [51], которые в результате анализа *in silico* обнаружили у АЦ из этого растения только цитозольный домен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, АЦ растений, в отличие от АЦ животных, наиболее хорошо изучены на биохимическом уровне, тогда как генетика этого фермента и его ортологи у различных видов растений исследованы недостаточно, и их поиски требуют, возможно, новых нестандартных подходов. Al-Younis с соавт. [61] предложил название “крипто-аденилатциклазы” растений, и с этим, можно согласиться, поскольку растительные АЦ обнаруживаются часто в составе мультиферментных комплексов. [46, 54, 58, 61]. Этот феномен растительного фермента является еще одним принципиальным отличием от АЦ животных, и пока трудно сделать однозначный вывод о причинах этого явления. Анализ литературных данных позволяет предположить, что, с одной стороны, существование белков с несколькими активными

центрами АЦ может быть одним из способов регуляции активности этого фермента [13], а с другой стороны, мультиферментный комплекс может более эффективно выполнять функции внутриклеточного сигнального микродомена [58, 61, 65]. При этом очевидно, что у растений функционируют различные формы аденилатциклазы, и они, как источники сигнальной молекулы, цАМФ, играют важную роль в реализации защитных механизмов при стрессах у растений [1, 2, 53, 70–72].

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alqurashi M., Gehring C., Maroundedze C. Changes in the *Arabidopsis thaliana* proteome implicate cAMP in biotic and abiotic stress responses and changes in energy metabolism // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17. P. 852. <https://doi.org/10.3390/ijms17060852>
2. Gehring C., Turek I. Cyclic nucleotide monophosphates and their cyclases in plant signaling // Front. Plant Sci. 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01704>
3. Johnson J.-L.F., Leroux M.R. cAMP and cGMP signaling: sensory systems with prokaryotic roots adopted by eukaryotic cilia // Trends Cell Biol. 2010. V. 20. P. 435. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.05.005>
4. Świeżawska B., Duszyn M., Jaworski K., Szmidt-Jaworska A. Downstream targets of cyclic nucleotides in plants // Frontiers Plant Science. 2018. V. 9: Article 1428. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01428>
5. Sutherland E.W., Rall T.W., Mennon T. Adenyl cyclase: distribution, preparation and properties // J. Biol. Chem. 1962. V. 247. P. 1220.
6. Hanoune J., Pouille Y., Tzavara E., Shen T., Lipskaya M., Miyamoto N., Suzuki Y., Defer N. Adenylyl cyclases: structure, regulation, and function in an enzyme superfamily // Mol. Cell. Endocrinol. 1997. V. 128. P. 179. [https://doi.org/10.1016/s0303-7207\(97\)04013-6](https://doi.org/10.1016/s0303-7207(97)04013-6)
7. Tesmer J.G., Sunahara R.K., Johnson R.A., Gosselin G., Gilman A.G., Sprang S.A. Two-metal-ion catalysis in adenylyl cyclase // Science. 1999. V. 285. P. 756. <https://doi.org/10.1126/science.285.5428.756>
8. Amrhein N. Evidence against the occurrence of adenosine 3',5'-cyclic monophosphate in higher plants // Planta. 1974. V. 118. P. 241.
9. Spiteri A., Viratelle O.M., Raymond P., Rancillac M., Labouesse J., Pradet A. Artefactual origins of cyclic AMP in higher plant tissues // Plant Physiol. 1989. V. 91. P. 624. <https://doi.org/10.1104/pp.91.2.624>
10. Ishikawa I., Homey C. The adenylyl cyclases as integrators of transmembrane signal transduction // Circulation Research. 1997. V. 80. P. 297. <https://doi.org/10.1161/01.RES.80.3.297>

11. Jasso-Chávez R., Vega-Segura A., El-Hafidi M., Moreno-Sanchez R., Torres-Marquez M.E. Kinetic and thermodynamic characterization of adenylyl cyclase from *Euglena gracilis* // Archives Biochem. Biophys. 2002. V. 404. P. 48.
[https://doi.org/10.1016/s0003-9861\(02\)00235-7](https://doi.org/10.1016/s0003-9861(02)00235-7)
12. Hellevuo K., Berry R., Sikela J.M., Tabakoff B. Localization of the gene for a novel human adenylyl cyclase (ADCY7) to chromosome 16 // Hum. Genet. 1995. V. 95. P. 197.
<https://doi.org/10.1007/BF00209401>
13. Ruzvidzo O., Dikobe D.T., Kawadza D.T., Mabadahanye G.H., Chatukuta P., Kwezi L. Recombinant expression and functional testing of candidate adenylate cyclase domains // Cyclic nucleotide signaling in plants. Methods and protocols. New York: Springer Science+Business Media. 2013. P. 13.
14. Defer N., Best-Belpomme M., Hanoune J. Tissue specificity and physiological relevance of various isoforms of adenylyl cyclase // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2000. V. 279. P. F400.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.2000.279.3.F400>
15. Halls M.L., Cooper D.M.F. Regulation by Ca²⁺ signaling pathways of adenylyl cyclases // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2011. V.3: a004143.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004143>
16. Danchin A. Adenylyl cyclases and guanylyl cyclases: role and classification // http://www.normalesup.org/-adanchin/science/adenylyl_cyclases.html. 2010.
17. Kamenetsky M., Middelhaufe S., Bank E.M., Levin L.R., Buck J., Steegborn C. Molecular details of cAMP generation in mammalian cells: a tale of two systems // J. Mol. Biol. 2006. V. 362. P. 623.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.07.045>
18. Drum C.L., Yan S.Z., Bard J., Shen Y.Q., Lu D., Soelaiman S., Grabarek Z., Bohm A., Tang W.J. Structural basis for the activation of anthrax adenylyl cyclase exotoxin by calmodulin // Nature. 2002. V. 415. P. 396.
<https://doi.org/10.1038/415396a>
19. Baker D.A., Kelly J.M. Structure, function and evolution of microbial adenylyl and guanylyl cyclases // Mol. Microb. 2004. V. 52. P. 1229.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04067.x>
20. Linder J.U. Class III adenylyl cyclases: molecular mechanisms of catalysis and regulation // Cell Mol. Life Sci. 2006. V. 63. P. 1736.
<https://doi.org/10.1007/s00018-006-6072-0>
21. Téllez-Sosa J., Soberón N., Vega-Segura A., Torres-Márquez M.E., Cevallos M.A. The *Rhizobium etli cya C* product: characterization of a novel adenylate cyclase class // J. Bacteriol. 2002. V. 84. P. 3560.
<https://doi.org/10.1128/JB.184.13.3560-3568.2002>
22. Steegborn C. Structure, mechanism, and regulation of soluble adenylyl cyclases — similarities and differences to transmembrane adenylyl cyclases // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1842. P. 535.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.08.012>
23. Sunahara R., Taussig R. Isoforms of mammalian adenylyl cyclase: multiplicities of signaling // Mol. Intervent. 2002. V. 2. P. 168.
<https://doi.org/10.1124/mi.2.3.168>
24. Chang J.C., Beuers U., Elferink R. The emerging role of soluble adenylyl cyclase in primary biliary cholangitis // Dig. Dis. 2017. V. 35. P. 217.
<https://doi.org/10.1159/000450914>
25. Roa J.N., Tresguerres M. Bicarbonate-sensing soluble adenylyl cyclase is present in the cell cytoplasm and nucleus of multiple shark tissues // Physiol. Reports. 2017. V. 5. P. e13090.
<https://doi.org/10.14814/phy2.13090>
26. Wuttke M.S., Buck J., Levin L.R. Bicarbonate-regulated soluble adenylyl cyclase // J. Pancreas. 2001. V. 2. P. 154.
27. Kobayashi M., Buck J., Levin L.R. Conservation of functional domain structure in bicarbonate-regulated “soluble” adenylyl cyclases in bacteria and eukaryotes // Dev. Genes. Evol. 2004. V. 214. P. 503.
<https://doi.org/10.1007/s00427-004-0432-2>
28. Kleinboelting S., Diazb A., Monioto S., Heuvelc J., Weyanda M., Levin L.R., Buck J., Steegborn C. Crystal structures of human soluble adenylyl cyclase reveal mechanisms of catalysis and of its activation through bicarbonate // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2014. V. 111. P. 3727.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1322778111>
29. Buck J., Sinclair M.L., Schapal L., Cann M.J., Levin L.R. Cytosolic adenylyl cyclase defines a unique signaling molecule in mammals // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1999. V. 96. P. 79.
<https://doi.org/10.1073/pnas.96.1.79>
30. Zippin J.H., Chen Y., Nahirney P., Kamenetsky M., Wuttke M.S., Fischman D.A., Levin L.R., Buck J. Compartmentalization of bicarbonate-sensitive adenylyl cyclase in distinct signaling microdomains // Faseb J. 2003. V. 17. P. 82.
<https://doi.org/10.1096/fj.02-0598fje>
31. Brown E.G., Newton R.P. Occurrence of adenosine 3':5'-cyclic monophosphate in plant tissues // TIBS. 1973. V. 12. P. 2683.
32. Bhalta S.C., Chopra R.N. Subcellular localization of adenylate cyclase in the shoot apices of *Bryum argenteum* Hedw // Ann. Botany. 1984. V. 54. P. 195.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086783>
33. Carricarte V.C., Bianchin G.M., Muschiatti J.P. Adenylate cyclase activity in a higher plant, alfalfa (*Medicago sativa*) // Biochem. J. 1988. V. 249. P. 807.
<https://doi.org/10.1042/bj2490807>
34. Gasumov K.G., Shichijo C., Bayramov S.M., Hashimoto T. Membrane and soluble fractions of adenylyl cyclase from *Sorghum bicolor* seedlings positively react to the action of red and far red lights // Fest Conference on Photochemistry and Photobiology. 1997. <http://www.photobiology.com/v1/contrib.htm>
35. Lusini P., Trabalzini L., Franchi G.G., Bovalini L., Martelli P. Adenylate cyclase in roots of *Ricinus comuis*: stimulation by GTF and Mn²⁺ // Phytochem. 1999. V. 30. P. 109.
36. Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Филинова Н.В., Салеев Р.К. Влияние экзополисахаридов возбудителя кольцевой гнили картофеля на кинетические параметры аденилатциклазы в растениях картофеля // Доклады АН. 2011. Т. 441. С. 404.
37. Тарчевский И.А. Сигнальные системы растений. Москва: Наука, 2002. 294 с.

38. Roelofs J., Van Haastert P.J. Deducing the origin of soluble adenylyl cyclase, a gene lost in multiple lineages // *Mol. Biol. Evol.* 2002. V. 9. P. 2239. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004047>
39. Moutinho A., Hussey P. J., Trevawas A.J., Malho R. Cyclic AMP act as a second messenger in pollen tube growth and reorientation // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001. V. 98. P. 10481. <https://doi.org/10.1073/pnas.171104598>
40. Thomas L., Maronedze C., Ederli L., Pasqualini S., Gehring C. Proteomic signatures implicate cAMP in light and temperature responses in *Arabidopsis thaliana* // *J. Proteom.* 2013. V. 83. P. 47. <https://doi.org/10.1016/j.jpro.2013.02.032>
41. Di D.W., Zhang C., Guo G.Q. Involvement of secondary messengers and small organic molecules in auxin perception and signaling // *Plant Cell Rep.* 2015. V. 34. P. 895. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1767-z>
42. Cooke C.J., Smith C.J., Walton T.J., Newton R.P. Evidence that cyclic AMP is involved in the hypersensitive response of *Medicago sativa* to a fungal elicitor // *Phytochemistry.* 1994. V. 35. P. 889. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90633-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90633-2)
43. Jiang J., Fan L.W., Wu W.H. Evidence for involvement of endogenous cAMP in *Arabidopsis* defense responses to *Verticillium* toxins // *Cell Research.* 2005. V. 15. P. 585.
44. Koumura Y., Suzuki T., Yoshikawa S., Watanabe M., Iseki M. The origin of photoactivated adenylyl cyclase (PAC), the *Euglena* blue-light receptor: phylogenetic analysis of orthologues of PAC subunits from several euglenoids and trypanosome-type adenylyl cyclases from *Euglena gracilis* // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2004. V. 3. P. 580.
45. Blain-Hartung M., Rockwell N.C., Moreno M.V., Martin S.S., Gan F., Bryant D.A., Lagarias J.C. Cyanobacteriochrome-based photoswitchable adenylyl cyclases (cPACs) for broad spectrum light regulation of cAMP levels in cells // *J. Biol. Chem.* 2018. V. 293. P. 8473. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002258>
46. Yang H., Zhao Y., Chen N., Liu Y., Yang S., Du H., Wang W., Wu J., Tai F., Chen F., Hu X. A new adenylyl cyclase, putative disease-resistance RPP13-like protein 3, participates in abscisic acid-mediated resistance to heat stress in maize // *J. Exp. Bot.* 2021. V. 72. P. 283-301. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa431>
47. Sim W.-S., Kim H.-R. Effect of GA₃ on the cyclic AMP biosynthesis in maize seedling // *Plant Cell Physiol.* 1987. V. 28. P. 415. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077311>
48. Uematsu K., Nakajima M., Yamaguchi I., Yoneyama K., Fuku Y. Role of cAMP in gibberellin promotion of seed germination in *Orobancha minor* Smith // *J. Plant Growth Regul.* 2007. V. 26. P. 45.
49. Duc N.M., Kim H.R., Chung K.Y. Recent progress in understanding the conformational mechanism of heterotrimeric G protein activation // *Biomol. Ther.* 2017. V. 25. P. 4. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2016.169>
50. Ito M., Takahashi H., Sawasaki T., Ohnishi K., Hikichi Y., Kiba A. Novel type of adenylyl cyclase participates in tabtoxinine- β -lactam-induced cell death and occurrence of wildfire disease in *Nicotiana benthamiana* // *Plant Signaling & Behavior.* 2014. V. 9. P. e27420. <https://doi.org/10.4161/psb.27420>
51. Świeżawska B., Jaworski K., Pawełek A., Grzegorzewska W., Szewczuk P., Szmidt-Jaworska A. Molecular cloning and characterization of a novel adenylyl cyclase gene, HpAC1, involved in stress signaling in *Hippeastrum x hybridum* // *Plant Physiol. Biochem.* 2014. V. 80. P. 41. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.010>
52. Ma Y., Zhao Y., Walker R.K., Berkowitz G.A. Molecular steps in the immune signaling pathway evoked by plant elicitor peptides: Ca²⁺-dependent protein kinases, nitric oxide, and reactive oxygen species are downstream from the early Ca²⁺ signal // *Plant Physiol.* 2013. V. 163. P. 1459. <https://doi.org/10.1104/pp.113.226068>
53. Bindschedler L.V., Minibayeva F., Gardner S.L., Gerrish C., Davies D.R., Bolwell G.P. Early signalling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca²⁺ // *New Phytologist.* 2001. V. 151. P. 185. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00170.x>
54. Bianchet C., Wong A., Quaglia M., Alqurashi M., Gehring C., Ntougakise V., Pasqualina S. An *Arabidopsis thaliana* leucine-rich repeat protein harbors an adenylyl cyclase catalytic center and affects responses to pathogens // *J. Plant Physiol.* 2019. V. 232. P. 12. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.10.025>
55. Chatukuta P., Dikobe B., Kawadza D., Sehlabane K., Takundwa M., Wong A., Gehring C., Ruzvidzo O. An *Arabidopsis* clathrin assembly protein with a predicted role in plant defense can function as an adenylate cyclase // *Biomolecules.* 2018. <https://doi.org/10.3390/biom8020015>
56. Newton R.P., Roef L., Witters E., Van Onckelen H. Tansley Review No. 106. Cyclic nucleotides in higher plants: the enduring paradox // *New Phytol.* 1999. V. 143. P. 427. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00478.x>
57. Witters E., Valcke R., van Onckelen H. Cytoenzymological analysis of adenylyl cyclase activity and 3':5'-cAMP immunolocalization in chloroplasts of *Nicotiana tabacum*. *New Phytol.* 2005. V. 168. P. 709. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01476.x>
58. Al-Younis I., Moosa B., Kwiatkowski M., Jaworski K., Wong A., Gehring C. Functional crypto-adenylate cyclases operate in complex plant proteins // *Front. Plant Sci.* 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.711749>
59. Zhang H., Gao Z., Zheng X., Zhang Z. The role of G-proteins in plant immunity // *Plant Signal Behav.* 2012. V. 7. P. 1284. <https://doi.org/10.4161/psb.21431>
60. Guo T., Fang Y. Functional organization and dynamics of the cell nucleus // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. P. 378. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00378>
61. Al-Younis I., Wong A., Gehring C. The *Arabidopsis thaliana* K⁺-uptake permease 7 (AtKUP7) contains a functional cytosolic adenylate cyclase catalytic centre // *FEBS Letters.* 2015. V. 589. P. 3848. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.11.038>

62. *Kasahara M., Suetsugu N., Urano Y., Yamamoto C., Ohmori M., Takada Y., Okuda S., Nishiyama T., Sakayama H., Kohchi T., Takahashi F.* An adenylyl cyclase with a phosphodiesterase domain in basal plants with a motile sperm system // *Scient. Reports.* 2016. V. 6. P. 39232. <https://doi.org/10.1038/srep39232>
63. *Yamamoto C., Takahashi F., Ooe Y., Shirahata H., Shibata A., Kasahara M.* Distribution of adenylyl cyclase/cAMP phosphodiesterase gene, CAPE, in streptophytes reproducing via motile sperm // *Scient. Reports.* 2021. V. 11. P. 10054. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89539-z>
64. *Wong A., Tian X., Gehring C., Marondedze C.* Discovery of novel functional centers with rationally designed amino acid motifs // *Computat. structural biotechnol. J.* 2018. V. 16. P. 70. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2018.02.007>
65. *Gangwani L., Khurana J.P., Maheshwari S.C.* Inhibition of chloroplast protein phosphorylation by cAMP in *Lemna paucicostata* 6746 // *Phytochem.* 1996. V. 41. P. 49. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00616-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00616-8)
66. *Kleinboelting S., Miehl J., Steegborn C.* Crystal structure and enzymatic characterization of the putative adenylyl cyclase HpAC1 from *Hippeastrum* reveal dominant triphosphatase activity // *J. Structural Biol.* 2020. V. 212. P. 107649. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2020.1-6>
67. *Gehring C.* Adenylyl cyclases and cAMP in plant signaling – past and present // *Cell Commun. Signal.* 2010. V. 8. P. 1.
68. *Wong A., Gehring C.* Computational identification of candidate nucleotide cyclases in higher plants // *Cyclic Nucleotide Signaling in Plants. Methods and Protocols.* “HUMANA PRESS”, 2013, 205 p.
69. *Leipe D.D., Koonin E.V., Aravind L.* STAND, a class of P-loop NTPases including animal and plant regulators of programmed cell death: multiple, complex domain architectures, unusual phyletic patterns, and evolution by horizontal gene transfer // *J. Mol. Biol.* 2004. V. 343. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.08.023>
70. *Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Филинова Н.В.* Аденилатциклазы растений: влияние биотического стрессора на кинетические параметры трансмембранной и “растворимой” форм аденилатциклазы // *Биологические мембраны.* 2014. Т. 31. С. 129. <https://doi.org/10.7868/S0233475514010071>
71. *Pietrowska-Borek M., Chadzinikolau T., Borek S.* Cyclic nucleotides and nucleotide cyclases in plants under stress // *Improvement of crops in the Era of climatic changes.* New York: Springer Science+Business Media, 2014. 151p.
72. *Xu R., Guo Y., Peng S., Liu J., Li P., Jia W., Zhao J.* Molecular targets and biological functions of cAMP signaling in *Arabidopsis* // *Biomolecules.* 2021. V. 11. P. 688. <https://doi.org/10.3390/biom11050688>