

УДК 57.023 581.1

С.В. ІСАЄНКОВ

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки» НАН України, Київ  
E-mail: stan.isayenkov@gmail.com

## ОСОБЛИВОСТІ ОРГАНЕЛЬНОГО РОЗПІЗНАВАННЯ, ВЕЗИКУЛЯРНОГО ТРАНСПОРТУ ТА ФІЗІОЛОГІЧНА РОЛЬ РОСЛИННИХ ВАКУОЛЬ

*Наведено основні типи вакуолей рослинних клітин та їх характеристики. Розглянуто їхню будову, функції та роль у підтриманні клітинного гомеостазу. Описано моделі та особливості везикулярного транспорту і адресації до різних типів вакуолей. Запропоновано подальші перспективні напрямки досліджень цих клітинних органел.*

**Ключові слова:** внутрішньоклітинний транспорт, органельне розпізнавання, білкові вакуолі, літичні вакуолі.

**Вступ.** Вакуолі рослинних клітин є унікальними органелами, що відрізняються своєю поліфункціональністю. Вони є головним джерелом клітинного тurgору і резервуаром для зберігання та накопичення поживних речовин. Вакуолі рослинних клітин відповідають за підтримку гомеостазу різноманітних сполук у цитозолі – мінеральних сполук, цукрів, органічних кислот та вторинних метаболітів [1–3]. Деякі спеціалізовані типи клітин, а саме клітини продихів, демонструють швидкі зміни розміру клітини за рахунок зменшення об'єму вакуолі цих клітин. Швидкі зміни об'єму вакуолей забезпечують такі важливі процеси, як транспірація та дихання, що є необхідною умовою для виживання рослин.

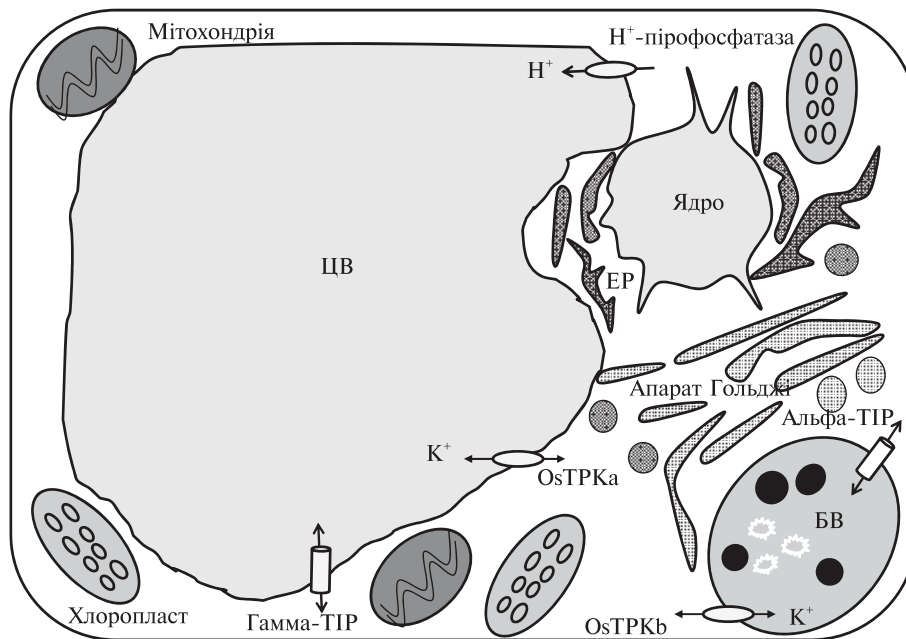
Центральна вакуоль (ЦВ), що присутня майже в усіх типах тканин вегетативних органів рослин, є головним типом вакуолей рослинних клітин. ЦВ може займати до 90 % об'єму клітини та відповідає за генерацію та підтримування тurgору. Окрім того, в ЦВ накопичуються продукти деградації цитоплазми клітини та містяться гідролітичні ферменти [1, 2]. Завдяки таким властивостям ЦВ ще часто називають літичними або вегетативними (рис. 1).

Із подальшим розвитком сучасних методів мікроскопії, молекулярної біології та біохімії було встановлено, що клітини рослин можуть мати декілька типів вакуолей. Таке функціональне різноманіття вакуолей є специфічним і залежить від типу тканини.

Так, клітини репродуктивних органів та насіння рослин збагачені на інший тип вакуолей, що отримали назву білкові вакуолі (БВ) (рис. 1) [4–13]. Вони мають невеликі розміри і відповідають за зберігання різноманітних білків та інших важливих поживних речовин. БВ є збагаченими на запасні білки та білки захисту, що надзвичайно важливо для проростання насіння та раннього розвитку проростків. Ці вакуолі також зустрічаються в клітинах вегетативних органів, але їх роль ще не повністю з'ясована. Припускається, що за умов впливу на рослини деяких абіотичних стресів, наприклад посухи та холоду, саме БВ клітин вегетативних тканин накопичують запасні білки [5, 14]. Показано, що вакуолі обох типів можуть співіснувати в одній клітині [6, 14–16]. Отже, ЦВ відрізняється від БВ за своєю морфологією, біохімічним складом та функціями. Нещодавно встановлено, що різні типи вакуолей також відрізняються набором водорозчинних та тонопластних білків. Зокрема деякі представники аквапоринів родини TIP (tonoplast intrinsic protein) та калієвих каналів родини TPK (Two Pore K<sup>+</sup> channels) мають різну вакуолярну локалізацію [4–6, 11–13].

Цей огляд присвячений аналізу результатів сучасних досліджень будови, механізмів транспорту та фізіологічної ролі різних типів рослинних вакуолей.

**Будова та функції вакуолей різних типів.** Існування великих ЦВ у клітині є важливою та необхідною умовою для росту рослин та розтягування клітин. Таке збільшення клітинного об'єму за рахунок розтягування допомагає рослині оптимізувати поверхню

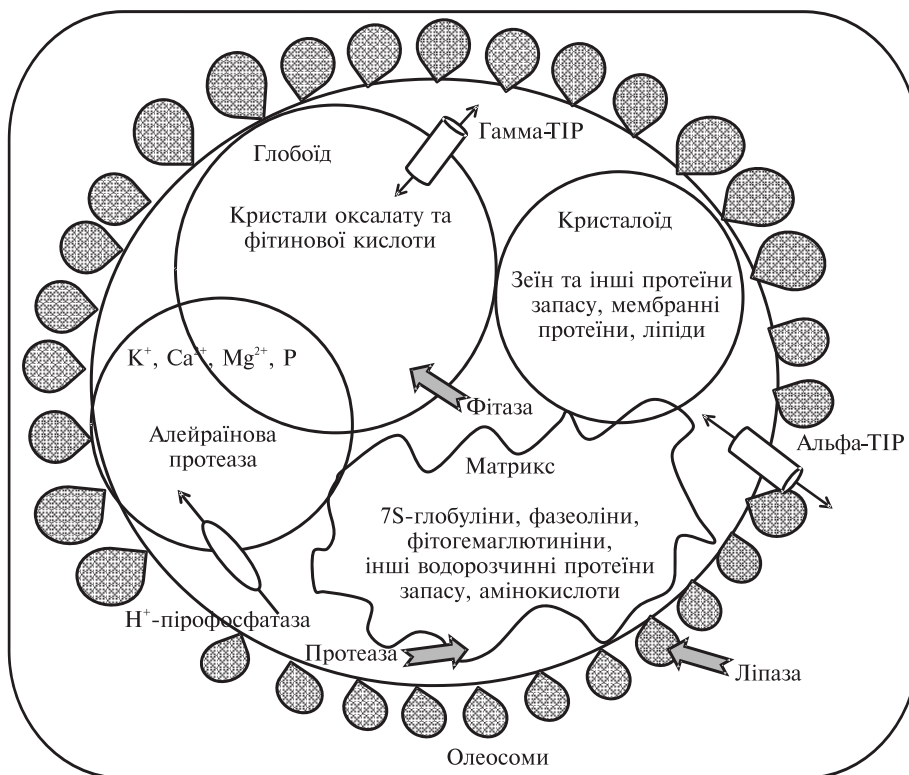


**Рис. 1.** Гіпотетична схема рослинної клітини та головні типи вакуоль: ЦВ (центральна вакуоль) має кислий рН, виконує функції резервуара для продуктів біохімічної деградації та розпаду, містить кислі протеази та виконує функцію лізису, відповідає за зберігання важливих мінеральних сполук, корисних речовин та води і є головним місцем генерації тургору в клітині; БВ (білкова вакуоля) має нейтральний рН, відповідає за зберігання білків та інших поживних речовин, не містить активних протеаз, може мати додаткові внутрішні компартменти – кристалоїди (білки) і глобоїди (комплекси солей)

поглинання сонячного світла в процесі фотосинтезу. ЦВ рослин є еквівалентами лізосом тваринних клітин та вакуоль дріжджів. Як вже зазначалося, ЦВ – основний резервуар для накопичення та зберігання іонів, мінеральних сполук і води, вторинних метаболітів і пігментів [2, 17, 18]. Зберігання ксенобіотичних та токсичних сполук у ЦВ допомагає зменшити їх негативний вплив на біохімічні процеси, які відбуваються у цитоплазмі. Метаболіти, що використовуються рослинами для свого захисту від патогенів та шкідників, також зберігаються у ЦВ і вивільняються із них у відповідь на механічні пошкодження клітини чи тканини або атаки шкідників. Створення запасів поживних речовин у ЦВ допомагає рослинам пережити періоди дефіциту важливих для життя рослини елементів та води за рахунок мобілізації ресурсів вакуоль [19–21]. Саме тому якісний та кількісний вміст ЦВ постійно змінюється відповідно до стадії розвитку рослини та факторів навколишнього середовища [22, 23]. ЦВ є також головним та найбільшим депо рослинної клітини для зберігання іонів кальцію. Отже ЦВ відіграють важливу роль у сигнальних процесах в клітині [18]. ЦВ мають кислий рН, що сягає позначки 4–5, але у деяких випадках може знижуватись до двох у цитросових [23].

Низьке рН вакуолярного соку значно полегшує процеси деградації різноманітних сполук завдяки наявності різноманітних гідролаз, що є аналогами гідролітичних ферментів лізосом тваринних клітин [24, 25]. Тонoplast ЦВ вищих рослин, вакуоль грибів та лізосом клітин тварин містить дуже подібні  $H^+$ -АТФази, що беруть активну участь у закисленні вакуолярного соку. Унікальними для тонoplastу рослинних вакуоль є  $H^+$ -пірофосфатази, що також можуть брати участь у створенні кислого рН вакуолярного соку та, можливо, у транспорті калію [26, 27]. Тонoplast ЦВ містить специфічний для них гамма-ТІР-аквапорин [6, 28–30]. Цікавим є також той факт, що функціонування гамма-ТІР-аквапорину вимагає кислого рН (рис. 1) [31].

Нещодавно був відкритий подібний до ЦВ інший підтип вакуоль, що отримав назву «вакуолі, асоційовані із процесами старіння» (SAVs, senescence-associated vacuoles) [32, 33]. SAV-вакуолі містять специфічну SAG12 цистеїн протеазу (senescence-associated gene 12). Окрім того, рН соку цих вакуоль на відміну від «класичних» ЦВ є кислішим. ЦВ специфічний  $c$ -ТІР-аквапорин є відсутнім у тонoplastі SAV-вакуоль. Вважається, що SAV-вакуолі із високою протеолітичною активністю утворюються *de novo* у клі-



**Рис. 2.** Особливості будови БВ (білкової вакуолі). Матрикс та кристалоїд БВ є головними резервуарами для зберігання різних типів білків. Кристалоїди містять запасні білки, мембранні білки та велику кількість ліпідів. Матрикс здебільшого містить водорозчинні запасні білки та амінокислоти. Глобоїди складаються із кристалів оксалату та фітинової кислоти та є головними резервуарами зберігання мінеральних сполук. Компартменти глобоїдів також містять алеїраїнову протеазу. Тонoplast БВ оточений олеосомами (тригліцеридами) та відіграє важливу роль у зберіганні ліпідів

тинах листків, що старіють, та містять агрегати деградованого матеріалу компонентів клітини [33, 34]. Припускається, що SAV-вакуолі поряд із ЦВ можуть брати активну участь у процесах запрограмованої клітинної загибелі [34, 35].

Слід зазначити, що білки насіння рослин є головним джерелом харчування для людства [36, 37]. Тривалий термін рослини можуть зберігати амінокислоти у формі специфічних запасних білків. Велика кількість запасних білків накопичується в насінні, корені та інших вегетативних органах, зокрема коренеплодах та цибулинах. Рослини для захисту запасних білків від неконтрольованої передчасної деградації в клітині використовують декілька механізмів. Одним із головних механізмів захисту запасних білків від розпаду, як ми вже зазначали, є зберігання у білкових вакуолях, тому раніше ці клітинні органели іноді називали білковими тілами (PB, protein bodies) [38, 39]. У свій час існувала думка, що БВ утворюються шляхом фрагментації ЦВ в процесі синтезу запасних білків та їх накопичення [40]. Але

ця модель походження БВ не могла пояснити, як запасні білки, що зберігаються у вакуолях цього типу, будуть уникати дії кислих протеаз, характерних для ЦВ. Подальші дослідження БВ із алеїронового шару зернівок ячменю показали, що для вакуоль цього типу притаманні нейтральний рН (близько 7), наявність аспартат протеази і хітинази та відсутність типової протеази ЦВ – алеїраїну (aleurain) [41–45].

На відміну від тонoplastу ЦВ, що містить у собі гамма-ТІР-аквапорин, тонoplast БВ містить у собі альфа-ТІР та дельта-ТІР-аквапорини (рис. 1 і 2) [6–8]. До того ж нещодавно з'ясовано, що вакуолярні калієві канали родини ТРК (Two Pore K<sup>+</sup> channel) також мають різну вакуолярну спеціалізацію. Так, OsTRKа із рису локалізується у тонoplastі ЦВ, а OsTRKb – у мембрані БВ [12, 13].

Слід ще раз підкреслити, що БВ є дуже складними та унікальними органелами. Більшість БВ клітин насіння містять у собі одне чи декілька відмінних один від одного спеціалізованих утворень. БВ можуть складатися із матриксу, кристалоїду та глобоїду (рис. 1

і 2) [11, 38, 39]. У матриксі містяться більшість водорозчинних білків. Структура та склад кристалоїдів залишаються ще не зовсім з'ясованими. Відомо, що кристалоїди містять запасні білки, мембранні білки та велику кількість ліпідів [10]. Матрикс та кристалоїд є головними резервуарами для зберігання різних типів білків. БВ насіння бобових не має кристалоїдів [38, 39]. При експресії у трансгенному насінні тютюну запасних білків бобових, а саме фазеолину і фітогемаглютиніну, ці білки накопичувались у матриксі БВ [46–49]. На відміну від останніх зеїн бобових вже накопичувався у кристалоїдах БВ насіння тютюну [47]. Крім того, присутність трьох різних типів мембранних білків (Re-F-B-альфа, DIP (dark-induced protein) та RMR (receptor-membrane-ring H2 protein)) у кристалоїді БВ вказує на те, що ліпідні мембрани є невід'ємною частиною цієї структури [8]. Походження кристалоїдів та їх функції все ще залишається нез'ясованим [8, 50].

Глобоїди складаються із кристалів оксалату та фітинової кислоти [40, 41, 46, 51]. Крім того, останні дослідження за допомогою електронної конфокальної мікроскопії та біохімічного аналізу ізольованих глобоїдів вказує на те, що ці утворення оточені двохшаровою ліпідною мембраною [31]. Цікавим фактом є те, що мембрани глобоїдів містять у собі специфічні для ЦВ  $H^+$ -пірофосфатази (V-PPase) та гамма-TIP-аквапорини [31]. Глобоїди також містять специфічну для ЦВ алейраїнову протеазу [31]. Ці внутрішні утворення БВ накопичують інтегральний маркерний протеїн, що є специфічним для транспортного шляху від Гольджі до ЦВ [51]. До того ж глобоїди БВ клітин арабідопсису містять на своїй мембрані специфічний для ЦВ транспортер металу NRAMP4 [51]. Отже, глобоїди БВ за своїми ознаками є подібними до ЦВ (рис. 1 і 2) [52]. Одним із пояснень феномену існування вакуолі одного типу всередині іншої вакуолі є те, що глобоїди можуть з'являтися в них у результаті поглинання ЦВ БВ-вакуолями за допомогою автофагії. Завдяки імуноцитохімічному аналізу насіння арабідопсису із застосуванням антитіл проти альфа-TIP та гамма-TIP-аквапоринів,  $H^+$ -пірофосфатази та транспортера металів NRAMP4 підтверджено гіпотезу про те, що мембранні структури глобоїдів походять від ЦВ [51]. Глобоїди БВ містили у собі характерні для ЦВ гамма-TIP-аквапорини,  $H^+$ -пірофосфатази та транспортер металів NRAMP4. Ці утворення зникали після стратифікації насіння та заміщалися на новоутворені літичні вакуолі, що містили гамма-TIP-аквапорин та  $H^+$ -пірофосфатази, але не мали транспортера металів NRAMP4. Отже, існування в клітині такої складної та унікальної мультивезикулярної органели, як БВ, обумовлене створенням оптимальних умов для зберігання запасних білків різної природи та парального запуску зовсім різних та відмінних один

від одного біохімічних процесів, що є необхідними для проростання чи інших важливих фізіологічних функцій (рис. 1 і 2) [8].

Слід зазначити, що БВ рослинних клітин також не мають аналогів в клітинах ссавців та дріжджів. Біологічна роль БВ вивчена ще не достатньо. Здебільшого детальні дослідження БВ проводилися в клітинах насіння. Багато питань стосовно функцій БВ залишаються відкритими. Невідомою залишається фізіологічна роль вакуоль цього типу в інших типах клітин (клітини кореню, мезофілу та інших тканин). Майже зовсім не з'ясована функція БВ цього типу у захисті рослин та автофагії.

Крім того, слід зазначити, що нині залишається не з'ясованим, до якого типу вакуоль варто відносити вакуолярні структури, що містять тільки дельта-TIP на своїй мембрані. Існують роботи, що показують локалізацію дельта-TIP-аквапорину у невеликих вакуолях клітин листової паренхіми [5]. Дельта-TIP-вакуолі формуються в клітинах рослин за умов механічних ушкоджень тканин чи змін у розвитку рослини, що негативно впливають на накопичення вуглецю та азоту у клітинах листової паренхіми [5]. Біологічна функція цього підтипу вакуоль залишається не з'ясованою [5, 53]. Цілком ймовірно, що вакуолі із дельта-TIP-аквапорином у тонопласті є окремим типом рослинних вакуоль та заслуговують на подальше детальне вивчення.

**Транспорт білків та механізми його вакуольного розпізнавання.** У рослинних клітинах, як і у клітинах ссавців та дріжджів, транспорт новосинтезованих водорозчинних та більшості мембранних білків до вакуоль розпочинається у ендоплазматичному ретикулумі (ER). Водорозчинні білки зазнають подальших модифікацій гліканами у компартментах Гольджі і надалі транспортуються у вакуолі [3, 54].

Білки, що транспортуються до вакуоль, мають сигнальні послідовності вакуолярного розпізнавання (VSS, vacuolar sorting signals) [55, 56]. Завдяки таким сигнальним послідовностям відбувається адресація транспорту цих білків у відповідні клітинні структури [2, 3, 12, 13]. Здебільшого вакуолярні білки синтезуються у вигляді більших за розміром попередників разом із N- чи C-термінальними пропептидами [3]. «Дозрівання» цих пропептидів відбувається за рахунок зменшення розміру шляхом вирізання певних ділянок та подальшої секреції. Встановлено, що приєднання таких N- чи C-термінальних пропептидів до інших білків призводило до накопичення останніх у вакуолях [3, 54, 57]. Отже, саме у N- чи C-термінальних пропептидах вакуолярних білків містяться необхідні VSS-сигнали [3].

Відповідно до місця розташування VSS-сигналів в білку ці сигнали поділяють на три різних типи: N-, внутрішній та C-кінець [59]. Наприклад, спорамін та алейраїн мають VSS-сигнали на N-термі-

нальному кінці пропептиду [2, 58]. Лектин, фазеолін, хітиназа, 2S альбумін містять сигнальні послідовності у С-термінальному кінці, фітогемаглютинін та легумін мають VSS-сигнали всередині поліпептидної послідовності [2, 58].

Уперше VSS-сигнали на N-термінальному кінці були описані для алейраїну із ячменю та для спораміну із батату [59, 60]. VSS-сигнали цих білків містять амінокислотний специфічний «підпис» із аспарагін-пролін-ізолейцин-аргініну (NPIR) [59, 60]. Заміна амінокислот у NPIR-«підписі» VSS-сигналу за допомогою сайт-специфічного мутагенезу продемонструвала ключову роль ізолейцину у транспорті білків до вакуоль [59, 60]. Специфічні послідовності VSS-сигналів N-термінального кінця білків не втрачають свою функціональність навіть тоді, коли ці послідовності приєднують до С-термінального кінця маркерних білків [3]. Отже, такі сигнальні послідовності можуть міститися не лише на N-термінальних кінцях, а і всередині пептидного ланцюгу білка [3]. Схожа до сигнального мотиву алейраїну та спораміну VSS-послідовність була ідентифікована всередині пептидного ланцюгу у попередника рицину [61]. Білки із таким VSS-«підписом» здебільшого локалізуються у ЦВ, проте алейраїнова протеаза транспортується до глободів БВ [6, 31].

VSS-послідовності у С-термінальному кінці на відміну від VSS-сигналів у N-термінальному кінці не мають загальної консенсусної послідовності. Встановлено, що VSS-послідовності С-термінального кінця відповідають за коректну вакуолярну локалізацію лектину із ячменю та хітинази із тютюну [62, 63]. Експерименти із заміною одних амінокислотних залишків на інші засвідчили, що гідрофобні амінокислотні залишки є дуже важливими для коректної локалізації лектину та хітинази [64, 65]. Консенсусну послідовність для С-термінальних VSS-послідовностей виявлено для 2S альбумінів із бразильського горіха (*Bertholletia excelsa*), що мають VSS-мотив із NLPS-«підписом». Ця NLPS-послідовність є консервативною для білків родини альбумінів. Цікаво, що NLPS-послідовність знайдена у N-термінальних кінцях деяких спорамінів [3]. Злиття репортерних чи рекомбінантних білків із коротким С-термінальним VSS-сигналом (AFVY) із фазеоліну спрямовує транспорт цих сполук до матриксу БВ [66, 67].

Подальші дослідження VSS-послідовностей С-терміналів вакуолярних пептидів виявили, що здебільшого такі пептиди мають довгий бічний ланцюг у термінальних ділянках та негативний заряд в одному із положень сигнальних ділянок [3]. Здебільшого білки із С-термінальною VSS-послідовністю накопичуються у БВ [3, 63, 65]. Однак хітиназа із тютюну, що також має С-термінальну VSS-послідовність, накопичується у ЦВ. Таким чином, існування специфічних VSS-сигналів на різних кінцях полі-

пептидів свідчить про існування в рослинній клітині декількох незалежних механізмів розпізнавання та сортування вакуолярних білків із апарату Гольджі до рослинних вакуоль [63, 66].

Вакуолярні білки рослин із VSS-сигналами всередині поліпептидного ланцюгу синтезуються без подальшого відщеплення VSS-сигналів на С- чи N-термінальних кінцях. Детальні дослідження клітинного транспорту фітогемаглютинінів та легумінів, що транспортуються у БВ, дали можливість ідентифікувати VSS-сигнальні послідовності всередині поліпептидних ланцюгів «зрілих» білків [68, 69]. Такий тип VSS-сигналів був знайдений для декількох білків із насіння. Досить часто такі білки зазнають модифікацій в апараті Гольджі, що робить їх більш гідрофобними та допомагає їхній подальшій агрегації у комплекси [3]. Досить часто такий механізм агрегації білків розглядають як альтернативний механізм сортування білків у вакуолі, що не залежить від специфічних вакуолярних рецепторів [32].

Застосування різних фармакологічних сполук для дослідження транспорту білків у вакуолі протопластів тютюну показало, що водорозчинні вакуолярні та тонопластні білки транспортуються у ці органели за допомогою зовсім різних транспортних шляхів [70]. Транспорт білків тонопласту детально вивчався для аквапоринів родини TIP [8, 71, 72]. Різні TIP-аквапорини залучають різні транспортні механізми доставки до відповідних типів вакуоль [8]. TIP-аквапорини є трансмембранними білками, що мають шість трансмембранних доменів та розташовані у цитоплазмі С- і N-термінальні кінці [2]. Щоб локалізувати репортерний білок у тонопласті БВ, достатньо приєднати С-термінальний трансмембранний кінець альфа-TIP-аквапорину (AtTIP3;1) [8, 73]. Подальші дослідження транспорту TIP аквапоринів у протопластах тютюну за допомогою створення химерних білків, злитих із репортерним білком, показали, що напрямок транспорту можна змінити за допомогою застосування сигнальних послідовностей TIP-аквапоринів.

Іншим цікавим білком, що заслуговує на увагу, є VP-80. Цей білок із молекулярною масою 80 кД ідентифікований з лізату клатринових везикул (CCV, clathrine coated vesicles) [73]. VP-80 є трансмембранним білком, що локалізується в апараті Гольджі та малих мембранних PVC-компартментах (PVC, prevacuolar compartment) [1]. Встановлено, що трансмембранний домен водорозчинного білка VP-80 відповідає за транспорт білка через апарат Гольджі до малих мембранних PVC-компартментів [74].

Дослідження показують, що трансмембранний домен та С-термінал VP-80 відповідає за ретранслокацію білка із PVC-везикул до ЦВ чи глободу БВ [50]. Злиття С-термінального кінця гамма-TIP із трансмембранним доменом VP-80 не впливало на харак-

тер та напрямок транспорту химерного білка [74]. На відміну від гамма-ТІР-аквапорину при злитті трансмембранного домену ВР-80 із С-термінальним кінцем альфа-ТІР та репортерним білком цей химерний білок накопичувався у кристалоїдах БВ насіння трансформованого тютюну [50], проте злиття С-термінального кінця альфа-ТІР із трансмембранним доменом ВР-80 призводило до безпосереднього транспорту химерного білка із ЕР у БВ і без залучення апарату Гольджі [73]. Завдяки проведенню таких цікавих експериментів встановлено існування двох відмінних один від одного транспортних шляхів до БВ. З'ясовано, що гамма-ТІР транспортується у ЦВ із кислим рН за допомогою клатринових везикул та апарату Гольджі. Альфа-ТІР на відміну гамма-ТІР-аквапоринів доставляється до БВ без допомоги апарату Гольджі [73].

Подальші дослідження транспорту білків до вакуоль показали, що транспортні шляхи водорозчинних білків та мембранних білків мають різну чутливість до впливу інгібіторів внутрішньоклітинного транспорту (мономезин та брефелдин А) [74]. Наприклад, транспорт фітогемаглютиніну, фазеоліну та гамма-ТІР-аквапорину є чутливим до дії брефелдину А та безпосередньо залежить від функціонування апарату Гольджі [53, 75]. Транспорт альфа-ТІР-аквапорину на відміну від транспорту фазеоліну, гамма-ТІР-аквапорину та інших білків є нечутливим до дії брефелдину А та не залежить від апарату Гольджі [53, 75]. Застосування інгібіторів транспорту білків із ЕР до апарату Гольджі у експериментах із дослідженням білкового транспорту ще раз засвідчило існування у рослинних клітин двох різних шляхів транспорту білків до вакуоль. Таким чином, транспорт білків до БВ може відбуватися двома шляхами: за допомогою апарату Гольджі та без залучення цієї органели.

Нещодавно було показано, що калієві канали тонопласту із рису родини ТРК локалізуються у різних типах вакуоль [12, 13]. За допомогою дослідів із химерними гібридами цих двох ТРК білків встановлено три ключових амінокислотних залишки у С-термінальному кінці, що відповідають за вакуолярне розпізнавання. Більш того, досліді із застосуванням брефелдину А вказують на подібний до альфа-ТІР механізм транспорту OsTPKb у БВ [12, 13].

Важливу роль у внутрішньоклітинному транспорті білків до відповідних типів вакуоль відіграють рецептори вакуолярного розпізнавання (VSR, vacuolar sorting receptors). Ці рецептори спрямовують транспорт відповідних білків у вакуолі. Одним із перших VSR-рецепторів, що був ідентифікований, є ВР-80 із гороху [73]. Існувала гіпотеза, що NPIR VSS-мотив N-термінального кінця спораміну та алейраїну може розпізнаватися гіпотетичним VSR-рецептором. В експериментах із зв'язуванням ВР-80 і алейраїну встановлено специфічність до VSS-последовностей та за-

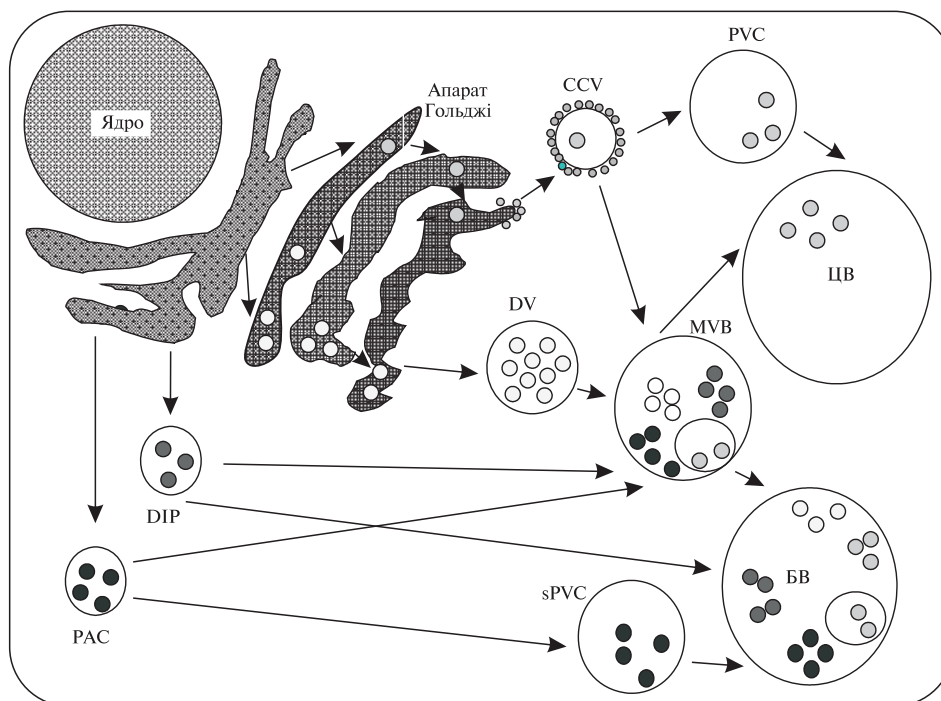
лежність від рН [3]. Таким чином було доказано, що ВР-80 є рецептором вакуолярного розпізнавання (VSR). Декілька рецепторів, гомологічних до ВР-80, ідентифіковані та клоновані у водоростей, мохів та папоротей. VSR-рецептори також беруть участь у розпізнаванні та транспорті деяких запасних білків, які не мають VSS-последовностей [3]. Рослини арабідопсису мають сім генів, що кодуєть VSR-рецептори [3]. У винограду (*Vitis vinifera* L.) на відміну від арабідопсису є лише три гени, що кодуєть VSR-рецептори.

Одним із перших VSR-рецепторів із арабідопсису був ідентифікований AtELP (*A. thaliana* epidermal growth factor-like protein) [76], який має високий ступінь гомології із ВР-80 та локалізується у клатринових везикулах (CCV, clathrin-coated vesicles), превакуолярних компартментах та апараті Гольджі [76–78]. VSR-рецептори є високонсервативними білками, що мають подібну клітинну локалізацію та можуть мати різну тканинну специфічність [2]. Наприклад, AtVSR1 відповідає за розподіл вакуолярних білків у насінні, а AtVSR3 локалізується у про-дихах [79, 80].

За допомогою аналізу гомології VSR-доменів із доменами різноманітних протеаз ідентифікована інша родина VSR-рецепторів. Ці білки отримали назву RMR (Receptor-membrane-Ring H2 protein) [81]. Відомо, що арабідопсис містить шість різних генів, що кодуєть RMR-білки, а геном рису – тільки два гени RMR [3]. Встановлено, що RMR-білки із арабідопсису здатні зв'язуватись із VSS-последовностями хітинази тютюну [82]. Гомологи RMR-білків в клітинах ссавців є частиною убіквітин Е3 лігази [83]. Біологічна роль цих двох типів рецепторів вакуолярного розпізнавання ще неповністю з'ясована. Припускається, що білки обох родин VSR-рецепторів можуть взаємодіяти між собою в процесах внутрішньоклітинного транспорту, органельного розпізнавання та відбору.

**Механізми везикулярного транспорту до вакуоль.** Транспорт багатьох макромолекул (білки, нуклеїнові кислоти, полісахариди, ліпопротеїди) в клітині здійснюється за допомогою послідовного утворення та злиття оточених мембраною пухирців (везикул). Транспорт сполук за допомогою везикул має низку переваг у порівнянні з іншими типами клітинного транспорту – поглинені або секретуються макромолекули, що знаходяться в бульбашках, зазвичай не змішуються з іншими макромолекулами або органелами клітини. Бульбашки можуть зливатися зі специфічними мембранами, що і забезпечує обмін макромолекулами між різноманітними компартментами клітини. Внутрішньоклітинний везикулярний транспорт відіграє важливу роль у біогенезі та функціонуванні рослинних вакуоль.

Існує велика низка досліджень, що свідчить про участь у везикулярному транспорті різних типів по-



**Рис. 3.** Модель внутрішньоклітинного транспорту білків до різних типів вакуоль. Транспорт білків до вакуоль відбувається за участі апарату Гольджі чи без залучення цієї органели. Транспорт білків до ЦВ (центральної вакуолі) відбувається виключно за допомогою апарату Гольджі та клатринових везикул (CCV). У подальшому клатринові везикули зливаються із превакуолярними компартментами (PVC), які у подальшому можуть зливатися із ЦВ або мультивезикулярними тілами. Мультивезикулярні тіла (MVB, multivesicular body) забезпечують транспорт білків до ЦВ та БВ (білкових вакуоль). Активну участь у транспорті білків із ЕР безпосередньо у БВ без залучення елементів апарату Гольджі беруть гладенькі за формою DV (dense vesicles), DIP (dark-induced tonoplast intrinsic protein vesicles) та PAC-везикули (precursor-accumulating vesicles). У багатьох випадках кінцевою ланкою транспорту білків до БВ є превакуолярні компартменти зберігання (sPVC, storage prevacuolar compartments), що безпосередньо зливаються із мембраною БВ. За допомогою комплексу ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) превакуолярні компартменти утворюють вп'ячування ділянок своєї мембрани всередину та формують MVB-тілця, що забезпечують транспорт білків до ЦВ та БВ

кривних білків оболонки везикул (COP, coat proteins). Різноманітні типи клітинних везикул, а саме клатринові везикули (CCV, clathrin-coated vesicles), COP1- та COP2-везикули, «щільні» везикули (DV, dense vesicles) були описані для рослинних клітин [2, 83–85]. Численні експериментальні дані свідчать про існування значної гомології між деякими COP-білками клітин рослин, ссавців та дріжджів, проте зовсім мало відомо про механізми та молекулярну природу везикулярного транспорту у рослин [85].

Нині існує думка, що більшість білків вакуоль транспортуються із апарату Гольджі за допомогою CCV-везикул. На пізніх етапах транспорту CCV-везикули зливаються із різноманітними типами превакуолярних компартментів (PVC, prevacuolar compartments) та передають останнім свій внутрішній

вміст [3, 83]. PVC-компартменти можуть безпосередньо зливатися із специфічним для них типом вакуоль (рис. 3) [3]. Разом з тим за допомогою комплексу білків ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) PVC-компартменти та інші типи везикул можуть зливатися разом та утворювати мультивезикулярні тілця (MVB, multivesicular body) (рис. 3) [85]. Численні літературні дані свідчать про те, що транспорт до різних типів вакуоль забезпечується за допомогою PVC-компартментів мультивезикулярного типу (MVB) [3, 84, 85].

Різниця у напрямках транспорту PVC-компартментів до різних типів вакуоль обумовлена залученням різного набору SNARE-білків (Soluble NSF Attachment Protein Receptor) для злиття везикул (v-SNARE, vesicle SNARE), а також для мембранного впізнавання

(t-SNARE, target SNARE) [86, 87]. Нещодавно новий тип PVC-компартментів знайдений у клітинах рису, арабідопсису та тютюну (BY-2) [88]. PVC-компартменти мають подібні до MVB-компартментів розміри, але характеризується відсутністю внутрішніх везикул [89]. Цей новий тип превакуолярних компартментів ідентифіковано завдяки наявності у них специфічних RMR-рецепторів (receptor homology-transmembrane-ring H2) [89]. Такі везикулярні структури отримали назву превакуолярні компартменти зберігання (sPVC, storage prevacuolar compartments). Експериментальні дані свідчать на користь того, що sPVC-везикули беруть участь у транспорті білків до БВ [3, 89]. Разом з тим «класичні» превакуолярні компартменти везикулярного типу (PVC/MVB) забезпечують транспорт білків до ЦВ та БВ. БВ та ЦВ рослинних клітин є фізіологічно та біохімічно різними клітинними органелами, бо їх обслуговують різні за походженням транспортні везикули [10]. Транспорт білків із апарату Гольджі до БВ забезпечують не «класичні» клатринові, а «щільні» DV-везикули діаметром 130 нм (DV, dense vesicles) [10, 89].

Механізми транспорту білків у вакуолі за допомогою елементів апарату Гольджі в рослинних клітинах майже не відрізняються від везикулярних транспортних шляхів клітин дріжджів та ссавців [3]. ЕР рослинних клітин на відміну від клітин ссавців є джерелом утворення та генерації різноманітних за своєю функцією та структурою мембранних ERdvc-компартментів (ERdvc, ER derived compartments), що беруть участь у транспорті білків до БВ без залучення елементів апарату Гольджі [90]. Такий механізм транспорту білків, що є незалежним від апарату Гольджі, притаманний лише рослинним клітинам. Однією із головних функцій ERdvc-компартментів є зберігання та транспорт запасних речовин, а саме білків та ліпідів до БВ. Крім того, ERdvc-компартменти накопичують деякі специфічні види протеаз, що у подальшому надходять у БВ і беруть участь у гідролізі запасних білків в процесі проростання насіння (рис. 3) [90, 91].

Транспорт до БВ запасних білків, переважно глобінів та проламінів, відбувається за різними механізмами. Глобіни є водорозчинними запасними білками зародку, що транспортуються до вакуоль із залученням комплексу Гольджі. Проламіни на відміну від глобінів є гідрофобними запасними білками зернівок злакових. Ці білки синтезуються ЕР та у подальшому агрегують у білкові тільца (ERdvpB, ER derived protein bodies) [90]. Таким чином, доставка гідрофобних запасних білків до БВ може відбуватись за рахунок транспорту ERdv-білкових тілець та без залучення елементів апарату Гольджі.

Окрім транспортних ERdv-білкових тілець, доставка білків та інших компонентів до БВ може відбуватися за рахунок інших типів ЕР-компартментів.

Дослідження транспорту запасних білків в клітинах незрілого насіння гарбуза засвідчили, що транспорт запасних білків, а саме глобуліну, відбувається за рахунок специфічних везикул, які накопичують попередників запасних білків (PAC, precursor-accumulating vesicles) [92]. Пізніше встановлено, що вони не мають нічого спільного із везикулярним транспортом до вакуоль, що залежить від апарату Гольджі [92]. Слід зазначити, що деякі запасні білки, а саме глобіни та цис-протеїнази, можуть транспортуватися безпосередньо із ЕР до БВ за допомогою PAC-везикул (рис. 3) [92, 93]. Окрім PAC-везикул, існує ще один цікавий тип мембранних утворень, що забезпечують незалежний від апарату Гольджі транспорт білків до БВ – це DIP-везикули (DIP, dark-induced tonoplast intrinsic protein vesicles) (рис. 3) [11, 31]. Цей тип везикул ідентифікований завдяки наявності у ньому DIP-аквапорину та подібного до рецептора RMR-білка. Подальші дослідження функцій DIP-везикул у клітині вказують на те, що вони є головним місцем транспорту елементів кристалоїду до БВ [11]. При злитті DIP-везикул із БВ відбувається передача мембранних компонентів, що містять DIP-аквапорин, у внутрішні компартменти БВ [14]. Цікавим фактом є те, що DIP-аквапорин відсутній у тонопласті БВ. Проте експериментальні дані свідчать про відсутність типових для мітичних вакуоль (ЦВ) альфа- та гамма-TP-аквапоринів у мембранах DIP-везикул [11].

Ймовірно, функцією DIP-везикул є доставка у БВ специфічних для ЦВ елементів, зокрема мембранних білків та, можливо, гідролітичних ферментів.

Відповідно до даних останніх досліджень зборка елементів тонопласту БВ, кристалоїду та глобоїду відбувається за рахунок доставки матеріалу від зовсім різних за своєю природою мембранних компартментів [11]. Наприклад, доставка багатьох елементів кристалоїду відбувається завдяки руху DIP-везикул, а водорозчинних білків до БВ матриксу – за допомогою DV-везикул [10, 11]. Транспорт матеріалу для глобоїду відбувається за рахунок роботи ССВ-везикул [50].

\* \*  
\*

Відкриття різних типів вакуоль дало можливість краще зрозуміти всю складність організації та функціонування рослинної клітини і рослинного організму в цілому, проте невирішених питань залишається ще дуже багато. Наведені дані свідчать про різноманіття шляхів та механізмів превакуолярного транспорту. Слід зазначити унікальність незалежного від апарату Гольджі шляху транспорту білків до БВ для рослин. Такий механізм має багато перспектив у майбутньому для застосування в біотехнології рослин. Завдяки відсутності гликозилування синтезованих сполук у комплексі Гольджі такі сполуки дос-



тавляються і накопичуються у ПБ без істотних хімічних видозмін та втрати своєї біологічної активності. Тому використання ПБ як біореакторів для накопичення та зберігання важливих біологічних та фармакологічних речовин є перспективним напрямком для подальшого розвитку біотехнології рослин [67]. Тому на порядку денному стоїть завдання дослідити біохімічну та молекулярну природу механізмів біогенезу, транспорту різних типів вакуоль та їх попередників. З метою ідентифікації нових генів та їх продуктів, що беруть участь у біогенезі та функціонуванні вакуоль рослинної клітини, необхідно широке застосування методів зворотної генетики та геноміки, зокрема створення РНКі ліній рослин по відповідних генах вакуолярних білків; скринінг колекцій мутантів, що мають порушення фенотипу вакуоль. Дослідження спеціалізованих бібліотек кДНК та інші дослідження транскриптому рослинної клітини допоможуть значно розширити наші знання про природу процесів, що відбуваються у цих важливих клітинних оргanelлах.

S.V. Isayenkov

Institute of Food Biotechnology and Genomics,  
NAS of Ukraine, Kyiv

#### PLANT VACUOLES: PHYSIOLOGICAL ROLES AND MECHANISMS OF VACUOLAR SORTING AND VESICULAR TRAFFICKING

In this review the main types of plant cell vacuoles were described. The structure, functions and other important characteristics were compared for the different vacuolar types. Moreover, the working models of vacuolar sorting and vesicular trafficking were outlined in this paper. The new important directions for further research of plant vacuoles were discussed.

S.V. Исаенков

#### ОСОБЕННОСТИ ОРГANELЛЬНОГО РАСПОЗНАВАНИЯ, ВЕЗИКУЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВАКУОЛЕЙ

Приведены основные типы вакуолей растительных клеток и описаны их основные характеристики. Рассмотрены особенности их строения, функции и роль в поддержании клеточного гомеостаза. Описаны модели, а также особенности везикулярного транспорта и адресации к разным типам вакуолей. Предложены дальнейшие перспективные направления исследований этих клеточных оргanelл.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Васильев А.Е., Воронин Н.С., Еленевский А.Г. и др. Ботаника : Морфология и анатомия растений. – М.: Просвещение, 1988. – 480 с.

2. Marty F. Plant vacuoles // *Plant Cell*. – 1999. – **11**. – P. 587–600.
3. Neuhaus J.M., Martinoia E. Plant vacuoles // *eLS* – 2011. – DOI: 10.1002/9780470015902.a0001675.pub2.
4. Muntz K., Shutov A.D. Legumins and their functions in plants // *Trends Plant Sci.* – 2002. – **7**. – P. 340–344.
5. Jauh G.Y., Fischer A.M., Grimes H.D. et al. delta-Tonoplast intrinsic protein defines unique plant vacuole functions // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1998. – **95**. – P. 12995–12999.
6. Paris N., Stanley C.M., Jones R.L., Rogers J.C. Plant cells contain two functionally distinct vacuolar compartments // *Cell*. – 1996. – **85**. – P. 563–572.
7. Hoh B., Hinz G., Jeong B.K., Robinson D.G. Protein storage vacuoles form *de novo* during pea cotyledon development // *J. Cell Sci.* – 1995. – **108**. – P. 299–310.
8. Jauh G.Y., Phillips T.E., Rogers J.C. Tonoplast intrinsic protein isoforms as markers for vacuolar functions // *Plant Cell*. – 1999. – **11**. – P. 1867–1882.
9. Swanson S.J., Bethke P.C., Jones R.L. Barley aleurone cells contain two types of vacuoles: characterization of lytic organelles using fluorescent probes // *Plant Cell*. – 1998 – **10**. – P. 685–698.
10. Hinz G., Hillmer S., Baumer M., Hohl I. Vacuolar storage proteins and the putative vacuolar sorting receptor BP-80 exit the Golgi apparatus of developing pea cotyledons in different transport vesicles // *Plant Cell*. – 1999. – **11**. – P. 1509–1524.
11. Jiang L., Phillips T.E., Rogers S.W., Rogers J.C. Biogenesis of the protein storage vacuole crystalloid // *J. Cell Biol.* – 2000. – **150**. – P. 755–770.
12. Isayenkov S., Isner J.C., Maathuis F.J.M. Rice two-pore K<sup>+</sup> channels are expressed in different types of vacuoles // *Plant Cell*. – 2011. – **23**. – P. 756–768.
13. Isayenkov S., Isner J.C., Maathuis F.J.M. Membrane localization diversity of TPK channels and their physiological role // *Plant Signal Behav.* – 2011. – **6**. – P. 1201–1204.
14. Vitale A., Hinz G. Sorting of proteins to storage vacuoles : How many mechanisms? // *Trends Plant Sci.* – 2005. – **10**. – P. 316–323.
15. Okita T.W., Rogers J.C. Compartmentation of proteins in the endomembrane system of plant cells // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1996. – **47**. – P. 327–350.
16. Frigerio L., Hinz G., Robinson D.G. Multiple vacuoles in plant cells: rule or exception? // *Traffic*. – 2008. – **9**. – P. 1564–1570.
17. Johnson K.D., Herman E.M., Chrispeels M.J. An abundant, highly conserved tonoplast protein in seeds // *Plant Physiol.* – 1989. – **91**. – P. 1006–1013.
18. Isayenkov S., Isner J.C., Maathuis F.J.M. Vacuolar ion

- channels : Roles in plant nutrition and signaling // FEBS Lett. – 2010. – **584**. – P. 1982–1988.
19. *Maathuis F.J.M.* Physiological functions of mineral macronutrients // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2009. – **12**. – P. 250–258.
  20. *Maathuis F.J.M., Sanders D.* Energization of potassium uptake in *Arabidopsis thaliana* // *Planta*. – 1993. – **191**. – P. 302–307.
  21. *Walker D.J., Leigh R.A., Miller A.J.* Potassium homeostasis in vacuolate plant cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1996. – **93**. – P. 10510–10514.
  22. *Marschner H.* Mineral nutrition in higher plants. – London : Acad. press, 1995. – 889 p.
  23. *Echeverria E., Jacqueline J.K.* Vacuolar acid hydrolysis as a physiological mechanism for sucrose breakdown // *Plant Physiol.* – 1989. – **90**. – P. 530–533.
  24. *Matile P.* Biochemistry and function of vacuoles // *Ann. Rev. Plant Physiol.* – 1978. – **29**. – P. 193–213.
  25. *Boller T., Wiemken A.* Dynamics of vacuolar compartmentation // *Ann. Rev. Plant Physiol.* – 1986. – **37**. – P. 137–164.
  26. *Martinoia E., Massonneau A., Frangne N.* Transport processes of solutes across the vacuolar membrane of higher plants // *Plant Cell Physiol.* – 2000. – **41**. – P. 1175–1186.
  27. *Hedrich R., Barbier-Brygoo H., Felle H.H. et al.* General mechanisms for solute transport across the tonoplast of plant vacuoles: a patch clamp survey of ion channels and proton pumps // *Bot. Ac.* – 1988. – **101**. – P. 7–13.
  28. *Höfte H., Hubbard L., Reizer J. et al.* Vegetative and seed-specific forms of tonoplast intrinsic protein in the vacuolar membrane of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol.* – 1992. – **99**. – P. 561–570.
  29. *Marty-Mazars D., Clemencet M.C., Dozolme P., Marty F.* Antibodies to the tonoplast from the storage parenchyma cells of beetroot recognize a major intrinsic protein related to TIPs // *Eur. J. Cell Biol.* – 1995. – **66**. – P. 106–118.
  30. *Barrieu F., Thomas D., Marty-Mazars D. et al.* Tonoplast intrinsic proteins from cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis): Immunological analysis, cDNA cloning and evidence for expression in meristematic tissues // *Planta*. – 1998. – **204**. – P. 335–344.
  31. *Jiang J., Phillips T., Hamm C. et al.* The protein storage vacuole: a unique compound organelle // *J. Cell Biol.* – 2001. – **155**. – P. 991–1002.
  32. *Otegui M.S., Noh Y-S., Marti'nez D.E. et al.* Senescence-associated vacuoles with intense proteolytic activity develop in leaves of *Arabidopsis* and soybean // *Plant J.* – 2005. – **41**. – P. 831–844.
  33. *Marti'nez D.E., Costa M.L., Gomez F.M. et al.* Senescence-associated vacuoles' are involved in the degradation of chloroplast proteins in tobacco leaves // *Plant J.* – 2008. – **56**. – P. 196–206.
  34. *Swidzinski J.A., Sweetlove L.J., Leaver C.J.* A custom microarray analysis of gene expression during programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J.* – 2002. – **30**. – P. 431–446.
  35. *Hara-Nishimura I., Hatsugai N.* The role of vacuole in plant cell death // *Cell Death and Differ.* – 2011. – **18**. – P. 1298–1304.
  36. *Müntz K.* Deposition of storage proteins // *Plant Mol. Biol.* – 1998. – **38**. – P. 77–99.
  37. *Herman E.M., Larkins B.A.* Protein storage bodies and vacuoles // *Plant Cell*. – 1999. – **11**. – P. 601–613.
  38. *Lott J.N.A.* Protein bodies : The biochemistry of plants. Vol. 1 / Ed. N.E. Tolbert. – New York : Acad. press, 1980. – P. 589–623.
  39. *Weber E., Neumann D.* Protein bodies, storage organelles in plant seeds // *Biochem. Physiol. Pflanzen*. – 1980. – **175**. – P. 279–306.
  40. *Craig S., Goodchild D.J., Miller C.* Structural aspects of protein accumulation in developing pea cotyledons. 2. Three-vacuole in plant cells // *Plant Physiol.* – 1980. – **101**. – P. 1–6.
  41. *Bethke P.C., Hillmer S., Jones R.L.* Isolation of intact protein storage vacuoles from barley aleurone: identification aspartic and cysteine proteases // *Plant Physiol.* – 1996. – **110**. – P. 521–529.
  42. *Runeberg-Roos P., Tormakangas K., Ostman A.* Primary structure of a barley-grain aspartic proteinase; a plant aspartic proteinase resembling mammalian cathepsin D // *Eur. J. Biochem.* – 1991. – **202**. – P. 1021–1027.
  43. *Runeberg-Roos P., Kervinen J., Kovaleva V. et al.* The aspartic proteinase of barley is a vacuolar enzyme that processes pro-barley lectin in vitro // *Plant Physiol.* – 1994. – **105**. – P. 321–329.
  44. *Di Sansebastiano G.P., Paris N., Marc-Martin S., Neuhaus J.M.* Specific accumulation of GFP in a non-acidic vacuolar compartment via a C-terminal propeptide-mediated sorting pathway // *Plant J.* – 1998. – **15**. – P. 449–457.
  45. *Di Sansebastiano G.P., Paris N., Marc-Martin S., Neuhaus J.M.* Regeneration of a lytic central vacuole and of neutral peripheral vacuoles can be visualized by green fluorescent proteins targeted to either type of vacuole // *Plant Physiol.* – 2001. – **126**. – P. 78–86.
  46. *Spitzer E., Lott J.N.A.* Thin-section, freeze-fracture, and energy dispersive x-ray analysis studies of the protein bodies of tomato seeds // *Can. J. Bot.* – 1980. – **58**. – P. 699–711.
  47. *Greenwood J.S., Chrispeels M.J.* Correct targeting of the bean storage protein phaseolin in the seeds of transformed tobacco // *Plant Physiol.* – 1985. – **79**. – P. 65–71.

48. Hoffman L.M., Donaldson D.D., Bookland R. et al. Synthesis and protein deposition of maize 15-kD zein in transgenic tobacco seeds // EMBO J. – 1987. – 6. – P. 3213–3221.
49. Sturm A., Chrispeels M.J. Correct glycosylation, Golgi-processing, and targeting to protein bodies of the vacuolar protein phytohemagglutinin in transgenic tobacco // Planta. – 1988. – 175. – P. 170–183.
50. Oufattole M., Park J.H., Poxleitner M. et al. Selective membrane protein internalization accompanies movement from the endoplasmic reticulum to the protein storage vacuole pathway in Arabidopsis // Plant Cell. – 2005. – 17. – P. 3066–3080.
51. Bolte S., Lanquar V., Soler M.N. et al. Distinct lytic vacuolar compartments are embedded inside the protein storage vacuole of dry and germinating Arabidopsis thaliana seeds // Plant Cell Physiol. – 2011. – 52. – P. 1142–1152.
52. Rogers J.C. Internal membranes in maize aleurone protein storage vacuoles : Beyond autophagy // Plant Cell. – 2011. – 23. – P. 4168–4171.
53. Park M., Kim S.J., Vitale A., Hwang I. Identification of the protein storage vacuole and protein targeting to the vacuole in leaf cells of three plant species // Plant Physiol. – 2004. – 134. – P. 625–639.
54. Pedrazzini E., Giovino G., Bielli A. et al. Protein quality control along the route to the plant vacuole // Plant Cell. – 1997. – 9. – P. 1869–1880.
55. Neuhaus J.M., Rogers J.C. Sorting of proteins to vacuoles in plant cells // Plant Mol. Biol. – 1998. – 38. – P. 127–144.
56. Jiang L., Rogers J.C. Sorting of lytic enzymes in the plant Golgi apparatus // Ann. Plant Rev. – 2003. – 9. – P. 114–140.
57. Niemes S., Labs M., Scheuring D. et al. Sorting of plant vacuolar proteins is initiated in the ER // Plant J. – 2010. – 62. – P. 601–614.
58. Chrispeels M.J., Raikhel N.V. Short peptide domains target proteins to vacuoles // Cell. – 1992. – 68. – P. 613–616.
59. Holwerda B.C., Padgett H.S., Rogers J.C. Proaleurain vacuolar targeting is mediated by short contiguous peptide interactions // Plant Cell. – 1992. – 4. – P. 307–318.
60. Nakamura K., Matsuoka K., Mukumoto F., Watanabe N. Processing and transport to the vacuole of a precursor to sweet potato sporamin in transformed tobacco cell line BY-2 // J. Exp. Bot. – 1993. – 44. – P. 331–338.
61. Frigerio L., Jolliffe N.A., Di Cola A. et al. The internal propeptide of the ricin precursor carries a sequence-specific determinant for vacuolar sorting // Plant Physiol. – 2001. – 126. – P. 167–173.
62. Bednarek S.Y., Raikhel N.V. The barley lectin carboxy-terminal propeptide is a vacuolar protein sorting determinant in plants // Plant Cell. – 1991. – 3. – P. 1195–1206.
63. Matsuoka K., Bassham D.C., Raikhel N.V., Nakamura K. Different sensitivity to wortmannin of two vacuolar sorting signals indicates the presence of distinct sorting machineries in tobacco cells // J. Cell Biol. – 1995. – 6. – P. 1307–1318.
64. Dombrowski J.E., Schroeder M.R., Bednarek S.Y., Raikhel N.V. Determination of the functional elements within the vacuolar targeting signal of barley lectin // Plant Cell. – 1993. – 5. – P. 587–596.
65. Neuhaus J.M., Pietrzak M., Boller T. Mutation analysis of the C-terminal vacuolar targeting peptide of tobacco chitinase : Low specificity of the sorting system, and gradual transition between intracellular retention and secretion into the extracellular space // Plant J. – 1994. – 5. – P. 45–54.
66. Frigerio L., de Virgilio M., Prada A. et al. Sorting of phaseolin to the vacuole is saturable and requires a short C-terminal peptide // Plant Cell. – 1998. – 10. – P. 1031–1042.
67. Miao Y., Ding Y., Sun Q-Y. et al. Plant bioreactors for pharmaceuticals // Biotechnol. and Genet. Engineer. Rev. – 2008. – 25. – P. 363–380.
68. Tague B.W., Dickenson C.D., Chrispeels M.J. A short domain of the plant vacuolar protein phytohemagglutinin targets invertase to the yeast vacuole // Plant Cell. – 1990. – 2. – P. 533–546.
69. Saalbach G., Jung R., Kunze G. et al. Different legumin protein domains act as vacuolar targeting signals // Plant Cell. – 1991. – 3. – P. 695–708.
70. Gomez L., Chrispeels M.J. Tonoplast and soluble vacuolar proteins are targeted by different mechanisms // Plant Cell. – 1993. – 5. – P. 1113–1124.
71. Höfte H., Chrispeels M.J. Protein sorting to the vacuolar membrane // Plant Cell. – 1992. – 4. – P. 995–1004.
72. Jiang L., Rogers J.C. Integral membrane protein sorting to vacuoles in plant cells : Evidence for two pathways // J. Cell Biol. – 1998. – 143. – P. 1183–1199.
73. Kirsch T., Paris N., Butler J.M. et al. Purification and initial characterization of a potential plant vacuolar targeting receptor // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1994. – 91. – P. 3403–3407.
74. Jiang L., Sun S.S. Membrane anchors for vacuolar targeting: application in plant bioreactors // Trends in Biotechnol. – 2002. – 20. – P. 99–102.
75. Ahmed S.U., Bar-Peled M., Raikhel N.V. Cloning and subcellular location of an Arabidopsis receptor-like protein that shares common features with protein-sorting receptors of eukaryotic cells // Plant Physiol. – 1997. – 114. – P. 325–336.
76. Hohl I., Robinson D.G., Maarten J. et al. Transport of storage proteins to the vacuole is mediated by vesicles

- without a clathrin coat // *J. Cell Sci.* – 1996. – **109**. – P. 2539–2550.
77. *Sanderfoot A.A., Ahmed S.U., Marty-Mazars D. et al.* A putative vacuolar cargo receptor partially colocalizes with AtPEP12p on a prevacuolar compartment in *Arabidopsis* roots // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1998. – **95**. – P. 9920–9925.
78. *Sanderfoot A.A., Raikhel N.V.* The specificity of vesicle trafficking: Coat proteins and SNAREs // *Plant Cell.* – 1999. – **11**. – P. 629–641.
79. *Shimada T., Fuji K., Tamura K. et al.* Vacuolar sorting receptor for seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2003. – **100**. – P. 16095–16100.
80. *Avila E.L., Brown M., Pan S. et al.* Expression analysis of *Arabidopsis* vacuolar sorting receptor 3 reveals a putative function in guard cells // *J. Exp. Bot.* – 2008. – **59**. – P. 1149–1161.
81. *Park J.H., Oufattole M., Rogers J.C.* Golgi-mediated vacuolar sorting in plant cells: RMR proteins are sorting receptors for the protein aggregation/membrane internalization pathway // *Plant Sci.* – 2007. – **172**. – P. 728–745.
82. *Kriegel M.A., Rathinam C., Flavell R.A.* E3 ubiquitin ligase GRAIL controls primary T cell activation and oral tolerance // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2009. – **106**. – P. 16770–16775.
83. *Robinson D.G., Hinz G., Holstein S.E.H.* The molecular characterization of transport vesicles // *Plant Mol. Biol.* – 1998. – **38**. – P. 49–76.
84. *Hwang I., Robinson D.G.* Transport vesicle formation in plant cells // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2009. – **12**. – P. 660–669.
85. *Tse Y.C., Mo B., Hillmer S. et al.* Identification of multivesicular bodies as prevacuolar compartments in *Nicotiana tabacum* BY-2 cells // *Plant Cell.* – 2004. – **16**. – P. 672–693.
86. *Sanmartin M., Ordonez A., Sohn E.J. et al.* Divergent functions of VTI12 and VTI11 in trafficking to storage and lytic vacuoles in *Arabidopsis* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**. – P. 3645–3650.
87. *Grefen C., Honsbein A., Blatt M.R.* Ion transport, membrane traffic and cellular volume control // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2011. – **14**. – P. 332–339.
88. *Shen Y., Wang J., Ding Y. et al.* The rice RMR1 associates with a distinct prevacuolar compartment for the protein storage vacuole pathway // *Mol. Plant.* – 2011. – **4**. – P. 854–868.
89. *Hillmer S., Mjvafechi A., Robinson D.G., Hinz G.* Vacuolar storage proteins are sorted in the cis-cisternae of the pea cotyledon Golgi apparatus // *J. Cell Biol.* – 2001. – **152**. – P. 41–50.
90. *Galili G.* ER derived compartments are formed by highly regulated processes and have special functions in plants // *Plant Physiol.* – 2004. – **136**. – P. 3411–3413.
91. *Hara-Nishimura I., Matsushima R., Shimada T., Nishimura M.* Diversity and formation of endoplasmic reticulum-derived compartments in plants. Are these compartments specific to plant cells? // *Plant Physiol.* – 2004. – **136**. – P. 3435–3439.
92. *Toyooka K., Okamoto T., Minamikawa T.* Mass transport of proform of a KDEL-tailed cysteine proteinase (SH-EP) to protein storage vacuoles by endoplasmic reticulum-derived vesicle is involved in protein mobilization in germinating seeds // *J. Cell Biol.* – 2000. – **148**. – P. 453–464.
93. *Hara-Nishimura I., Shimada T., Hatano K. et al.* Transport of storage proteins to protein storage vacuoles is mediated by large precursor-accumulating vesicles // *Plant Cell.* – 1998. – **10**. – P. 825–836.

Надійшла 22.10.12