



# БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



## ГЛУТАТИОН И ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ: ВАЖНЕЙШИЕ КОМПОНЕНТЫ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Э.А. Баймухаметова<sup>1</sup>, Р.М. Таипова<sup>1</sup>, Б.Р. Кулуев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Башкирский государственный университет, Уфа, [elvina.baimuhametova@yandex.ru](mailto:elvina.baimuhametova@yandex.ru)

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, [kuluev@bk.ru](mailto:kuluev@bk.ru)

### Резюме

В поддержании внутриклеточного гомеостаза и стрессоустойчивости растений важную роль играют сложно устроенные системы антиоксидантной защиты. Ключевым компонентом антиоксидантной системы растений является глутатион и связанные с ним многочисленные ферменты, из которых наиболее известны глутатион-S-трансферазы. Данный обзор посвящен рассмотрению роли глутатиона в растительной клетке, а также функций ферментов, использующих глутатион в качестве субстрата при окислительно-восстановительных реакциях. Изучение глутатиона, ферментов его биосинтеза, а также глутатион-S-трансфераз представляет большой интерес для биологии растений, так как полученные в этой области знания могут быть использованы на практике для увеличения стрессоустойчивости и продуктивности хозяйственно-ценных растений.

**Ключевые слова:** активные формы кислорода, глутатион, глутатионсинтетаза, глутаматцистеин лигаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатион-S-трансфераза, стрессоустойчивость, трансгенные растения

### Введение

Растения в ходе роста и развития постоянно подвергаются воздействию многочисленных стрессовых факторов, наиболее распространенными из которых являются засуха, холод, засоление и тяжелые металлы. В результате воздействия этих неблагоприятных факторов среды в клетках растений увеличивается продукция активных форм кислорода (АФК), которые при больших концентрациях оказывают негативное воздействие на все жизненно важные процессы в клетке [Wise, Naylor, 1987]. АФК вызывают перекисное окисление липидов, повреждают белки, ДНК и другие биомолекулы, и при высоких концентрациях могут привести к разрушению клеток и гибели растения [Загоскина, Назаренко, 2016]. В ответ на выработку АФК в растениях активируется сложно устроенная антиоксидантная система, которая включает полифункциональные соединения ингибирующие свободные радикалы и разрушающие органические пероксиды, различные хелаторы, связывающие катализаторы окисления, и тушители, инактивирующие возбужденные триплетные состояния молекул [Колупаев, 2016]. В целом, под

системой антиоксидантной защиты подразумевают не только компоненты, обеспечивающие элиминацию АФК и предотвращающие их появление, но и системы детоксикации, которые устраняют соединения, поврежденные при взаимодействии с АФК [Прадедова и др., 2011; Колупаев, 2016]. Одним из важнейших компонентов антиоксидантной системы являются ферменты, обезвреживающие АФК. К ним относится, в первую очередь, металлофермент супероксиддисмутаза (SOD), обезвреживающий супероксидный анион-радикал с образованием перекиси водорода [Gill, Tuteja, 2010]. Дальнейшее разложение перекиси водорода может катализироваться каталазами, аскорбатпероксидазами, гваякол-зависимыми пероксидазами и др. [Колупаев, 2016]. В антиоксидантной системе отдельно рассматриваются ферменты, участвующие в детоксикации соединений, образованных при перекисном окислении липидов. К таковым относятся, прежде всего, глутатионпероксидазы, которые в качестве восстановителя чаще всего используют глутатион [Gill, Tuteja, 2010]. Из низкомолекулярных соединений в растениях ключевыми

антиоксидантами являются токоферолы, аскорбиновая кислота и глутатион [Колупаев, 2016], которые при обезвреживании АФК переходят в окисленную форму. Однако каждый из них может снова переходить в восстановленную форму благодаря функционированию так называемых регенераторов. Например, фермент глутатионредуктаза обеспечивает поддержание пула восстановленного глутатиона за счет использования в качестве восстановителя НАД(Ф)Н<sup>+</sup> [Gill, Tuteja, 2010]. В целом, именно глутатион выполняет роль ключевого восстановителя в растительной клетке. Глутатион является субстратом для большого семейства многофункциональных ферментов глутатион-S-трансфераз при нейтрализации как внутренних продуктов окисления, так и токсичных ксенобиотиков [Marrs, 1996]. Цель данного обзора заключалась в рассмотрении глутатиона и глутатион-S-трансфераз в свете обеспечения клеточного гомеостаза в растениях в условиях стресса.

#### Роль глутатиона в растительном организме

Ввиду того, что окислительный стресс для аэробных форм жизни является постоянным и неизбежным, их развитие в значительной степени зависит от эффективности антиоксидантной защиты [May et al., 1998]. Наступлению окислительного стресса предшествует нарушение внутриклеточного окислительно-восстановительного гомеостаза вследствие превышения уровня АФК. Для того чтобы справиться с избытком свободных радикалов, организм использует защитные механизмы, направленные на детоксикацию АФК или блокировку их образования, а также на запуск ферментативной и неферментативной антиоксидантной защиты [Masella et al., 2005]. В растительном организме важнейшую роль во время окислительного стресса выполняет глутатион (GSH) [May et al., 1998].

Глутатион – линейный трипептид, состав которого представлен последовательностью  $\gamma$ -Glu-Cys-Gly, существующий в двух основных стабильных формах: восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) [Lallement et al., 2014]. Восстановленный глутатион относительно небольшая молекула, обнаруживаемая во всех живых системах. В цистеинильной части молекулы присутствует сульфгидрильная (-SH) группа, которая объясняет его сильный электронодонорный характер. Поскольку молекула утрачивает электроны, она окисляется, и две такие молекулы связываются посредством дисульфидного мостика, тем самым образуют дисульфид глутатиона (GSSG). Благодаря ферменту глутатионредуктазе и энергии НАДФН(Н<sup>+</sup>) происходит восстановление

окисленного глутатиона до его сульфгидрильной формы. Таким образом, GSH находится под внутриклеточным и внеклеточным гомеостатическим контролем [Kidd, 1997].

GSH является основным внутриклеточным тиол-содержащим соединением, которое может включаться в такие биохимические процессы, как синтез белка, фосфорилирование, транспорт, стабилизация структуры белка, фолдинг белка, связывание фактора транскрипции с ДНК. Отмечена роль GSH в формировании микротрубочек при построении веретена деления, в синтезе дезоксирибонуклеотидных предшественников ДНК; в поддержании сульфгидрильных групп белков; в сохранении способности клетки к генерации АТФ, а также он выступает в качестве донора электронов для глутатионпероксидаз, и задействован в образовании аскорбиновой кислоты [Ithayaraja, 2011].

Являясь псевдопептидом, глутатион не образуется путем классического синтеза белка. Биосинтез глутатиона обеспечивают два типа ферментных комплексов:  $\gamma$ -глутамилцистеинлигазы (глутаматцистеин лигаза) или  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтазы ( $\gamma$ -GCL или GSH1) и глутатионсинтазы (GS или GSH2). Первый этап синтеза GSH идет в хлоропластах, при котором происходит образование пептидной связи между цистеином и глутаминовой кислотой с участием фермента  $\gamma$  – глутаматцистеин лигазы ( $\gamma$ -GCL):  $L\text{-Cys} + L\text{-Glu} + \text{ATP} \leftrightarrow L\text{-}\gamma\text{-Glu-L-Cys} + \text{ADP} + \text{Pi}$  [May et al., 1998]. Второй этап синтеза идет с участием фермента глутатионсинтазы, которая катализирует АТФ-зависимое образование глутатиона из  $\gamma$ -Glu-Cys и Gly [Jez, Cahoon, 2004]:  $L\text{-}\gamma\text{-Glu-L-Cys} + \text{Gly} + \text{ATP} \leftrightarrow \text{GSH} + \text{ADP} + \text{Pi}$  [May et al., 1998].

В некоторых растениях, например, в бобовых культурах, встречаются гомологи глутатиона (hGSH). По структуре они близки к глутатиону, но в таких молекулах остаток глицина заменен на  $\beta$ -аланин и его синтез требует участия специальной hGSH- синтазы [Matamoros et al., 1999]. Например, присутствие в сое hGSH предпочтительнее, чем GSH, для процесса дезинтоксикации ацифлуорфена - ксенобиотика, применяемого против сорняков на посевах сои [Sugiyama et al., 2005]. Еще одним альтернативным для GSH является соединение гидроксиметилглутатион, в котором глициновый остаток заменен на серин. Это соединение содержится в рисе, пшенице, ячмене [Okumura et al., 2003].

Установлено, что глутатион присутствует во многих тканях и субклеточных компартментах.

Большее количество GSH (85-90%) присутствует в цитозоле, меньше в митохондриях, матриксе ядра и пероксисомах [Wu et al., 2004], например, в хлоропластах его концентрация оценивается в пределах от 1 до 4,5 ммоль [Noctor, Foyer, 1998], в цитоплазме клеток растений *Arabidopsis thaliana* его концентрация составляет не менее 3 ммоль [Meyer et al., 2001]. Распространенным способом для измерения количества GSH, содержащегося в клетке, является метод добавления флуорохрома монохлоробимана в культуральную среду, находясь в которой он легко проникает в клетки с образованием флуоресцентного вещества GSH-монохлоробимана, который может быть определен с помощью флуориметрического анализа [Kamencic et al., 2000].

В последнее время, чтобы оценить окислительно-восстановительный потенциал используют редокс-активный флуоресцентный белок roGFP2. Эксперименты, проведенные на *A. thaliana* с roGFP2 показали, что окислительно-восстановительный потенциал в цитозоле его клеток составляет -320 мВ [Meyer et al., 2007].

Окислительно-восстановительные буферные свойства и внутриклеточная концентрации GSH обуславливаются его химическими свойствами, способом синтеза и редукции. Кроме того, формирование GSH полимеров (фитохелатинов), и деградация GSH являются реакциями, которые контролируют внутриклеточный глутатионовый пул и соотношение GSH/GSSG [Rouhier et al., 2008]. За счет окислительно-восстановительных свойств пары GSH и GSSG происходит регуляция клеточного цикла [Sanchez-Fernandez et al., 1997]. Содержание GSH и GSSG поддерживает окислительно-восстановительный баланс в клеточных компартаментах. Это свойство имеет большое биологическое значение, так как оно позволяет поддерживать окислительно-восстановительный потенциал клетки при нормальных и стрессовых условиях [Alscher, 1989]. При оптимальном клеточном редокс статусе, основная часть этого регулятора находится в своей восстановленной форме и может быть ковалентно связан с белками посредством процесса, называемого глутатионилирование и выступать в качестве кофермента для целого ряда ферментов, участвующих в защите клетки [Pompella et al., 2003]. Таким образом, глутатион может как собирать свободные радикалы, так и выступать в качестве субстрата для глутатионпероксидаз (GPX) и глутатион-S-трансфераз (GST) во время детоксикации перекиси водорода, гидроперекисей липидов и электрофилов. В период окислительного стресса, концентрация GSH быстро снижается, в то

время как концентрация GSSG увеличивается из-за восстановления пероксидов или в результате образования свободных радикалов [Masella et al., 2005]. Когда растения подвержены действию субоптимальных условий, GSSG может накапливаться до более высоких уровней. Это явление наблюдается в экстрактах растений, подвергшихся воздействию различных абиотических и биотических стрессов. На основе исследований растений с дефицитом ферментов, таких как аскорбатпероксидазы (APX) и каталазы (CAT), показано, что накопление GSSG тесно связано с внутриклеточным наличием  $H_2O_2$ , содержание которого в условиях стресса повышается. Образование окисленной формы глутатиона происходит в основном за счет функционирования селенсодержащего фермента глутатионпероксидазы. Однако для глутатиона также характерен безферментативный катализ реакций с другими внутриклеточными окислителями, такими как супероксид анион ( $O_2^-$ ), синглетный кислород ( $^1O_2$ ), гидроксильный радикал (OH $\cdot$ ). GSH часто непосредственно действует на АФК и участвует в аскорбат-глутатионовом цикле удаляя  $H_2O_2$  в хлоропластах и цитозоле. Глутатион также участвует во многих других функциях растений, включая транспортировку и хранение серы, детоксикацию тяжелых металлов и ксенобиотиков [Noctor et al., 1998].

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами также является стрессовым фактором, отрицательно влияющим на развитие растительного организма. Некоторые тяжелые металлы, такие как  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$  и  $Zn^{2+}$  в следовых количествах необходимы для клеточного метаболизма в качестве кофакторов ферментов [Clarkson, 1995]. Другие тяжелые металлы, такие как  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  и  $Ag^+$  проявляют токсический эффект, являясь источником свободных радикалов, тем самым вызывают окислительный стресс. Детоксикация металлов в растительной клетке начинается с реакции связывания его с органическими кислотами и тиолами. В растениях известны механизмы защиты от тяжелых металлов за счет образования внутриклеточного комплекса с GSH или фитохелатина - продукта ферментативной полимеризации глутатиона, с которыми металлы активно транспортируются в вакуоль растительной клетки [Clemens, 2001; Постригань и др., 2012; Постригань и др., 2013].

Исходя из вышесказанного, можно предполагать, что путем повышения содержания GSH в клетках растений можно увеличивать стрессоустойчивость растений. С этой целью проводятся многочисленные исследования,

направленные на создание трансгенных растений с измененной экспрессией генов, кодирующих ферменты «глутатионового обмена». Действительно, к примеру, в трансгенных растениях индийской горчицы при сверхэкспрессии гена глутатионсинтетазы было выявлено увеличение содержания глутатиона и повышение устойчивости к тяжелым металлам и ксенобиотикам [Flosco et al., 2004]. Однако в трансгенных растениях тополя, сверхэкспрессирующих ген глутатионсинтетазы *gshII Escherichia coli*, увеличения содержания глутатиона в цитозоле и повышения стрессоустойчивости не происходило [Foyer et al., 1995]. Наиболее существенного увеличения содержания глутатиона и повышения стрессоустойчивости удалось добиться, сверхэкспрессируя в трансгенных растениях бифункциональный фермент, обладающий одновременно глутаматцистеин лигазной и глутатионсинтетазной активностями [Liedschulte et al., 2010]. Экспрессия этого фермента  $\gamma$ -глутаматцистеин лигазы-глутатионсинтетазы из *Streptococcus thermophilus* (StGCL-GS) в трансгенных растениях табака приводила к накоплению GSH в листьях в количествах, превышающих более чем в 20-30 раз уровень глутатиона, присутствующего в растениях дикого типа. Опытным путем был доказан защитный эффект от паракват-индуцированного окислительного стресса в растениях табака. Для определения эффективности этого процесса трансформанты табака StGCL-GS в течение 2-х недель подвергали действию яркого освещения. Полученные результаты свидетельствуют об увеличении общего содержания GSH в трансгенных линиях, при этом признаков окислительного стресса обнаружено не было. Также эти трансгенные растения проявляли устойчивость к воздействию тяжелых металлов [Liedschulte et al., 2010].

Опубликовано несколько работ, в которых доказываются вовлеченность GS в ответ растений на тяжелые металлы и металлоиды. Например, трансгенные растения *A. thaliana*, сверхэкспрессирующие ген глутатионсинтетазы *GSH1*, характеризовались способностью накапливать кадмий и мышьяк и одновременно отличались повышенной устойчивостью к этим химическим элементам [Guo et al., 2008]. В индийской горчице сверхэкспрессия гена глутатионсинтетазы *gshII E. coli* способствовала увеличению общего содержания кадмия в побегах в 3 раза по сравнению с диким типом. Одновременно трансгенные растения индийской горчицы характеризовались повышенной устойчивостью к тяжелым металлам. Аккумуляция

кадмия и устойчивость к нему коррелировала с уровнем экспрессии гена *gshII* [Zhu et al., 1999].

Наличие GSH имеет большое значение, однако его действие недостаточно для защиты клетки от окислительного стресса, возникает необходимость в присутствии глутатион-зависимых ферментов [Masella, 2005]. Вместе эти ферменты обеспечивают первую линию защиты от супероксида и пероксида водорода. Важную роль при этом, как уже упоминалось выше, играют глутатионпероксидазы (GPX), которые представляют собой семейство ферментов, способных уменьшать содержание различных органических и неорганических гидропероксидов, с использованием GSH и/или других восстановительных эквивалентов [Masella, 2005].

Контроль уровня АФК и защита клеток в условиях стресса осуществляется с помощью антиоксидантов, которые при взаимодействии с АФК переходят в окисленную форму. Для регенерации активных форм антиоксидантов необходим ряд ферментов, для глутатиона это глутатионредуктазы (GR). Экспрессия глутатионредуктазы у растений рода *Brassica* способствовала повышению их устойчивости к фотоингибированию, а также к различным стрессам, вызванным действием солей, тяжелых металлов и пестицидов, перекиси водорода, высокой и низкой температуры. У растений при солевом стрессе отмечено увеличение уровня содержания глутатиона в клетке, по сравнению с трансгенными растениями, устойчивыми к засолению среды [Kim et al., 2009]. Было показано, что активность GR проявляется как ответ на стресс, и мутации, влияющие на эту активность, имеют пагубные последствия для клетки, что доказывает важность ферментов GR в метаболизме GSH [Rogers et al., 2004]. Исследования растений указывает на то, что GR может выполнять определенную роль в борьбе с Fe-дефицитным стрессом через GPX совместно с супероксиддисмутазой (SOD). Нарушение активности GR приводит к накоплению пероксида водорода и супероксида в клетке, которые уменьшают содержание GSH [Ithayaraja, 2011].

Ключевым ферментом, образующимся под действием стрессовых условий и участвующим в защите клеточных мембран от окислительного стресса, является фосфолипид гидропероксидглутатионпероксидаза PHGPX. Этот фермент катализирует восстановление гидроперекисей фосфолипидов с помощью GSH. PHGPX и кодирующий его ген *csa* были выделены и охарактеризованы у цитрусовых. Отмечено, что его экспрессия индуцируется при действии тепла, холода и солевого стресса [Avsian-Kretchmer et al., 1999].

### Глутатион-S-трансферазы

Глутатион-S-трансферазы (КФ 2.5.1.18) это суперсемейство ферментов с молекулярной массой 50 кДа, которые играют важную роль в защите клеточных макромолекул от ряда токсичных соединений эндогенного и экзогенного происхождения, таких как ксенобиотики, гербициды, а также свободные радикалы [Ezaki et al., 2004]. Доказано, что глутатион-S-трансферазы появились в результате преобразования тиоредоксинподобного предшественника в ответ на возникновение аэробных условий в окружающей среде [Борвинская и др., 2013]. Эти ферменты были впервые обнаружены в 1960-х гг. в организме млекопитающих и отмечена их важная роль в метаболизме и детоксикации лекарственных средств [Dixon et al., 2002]. На сегодняшний день изоформы глутатион-S-трансфераз обнаружены как в прокариотических клетках, так и в клетках грибов, растений и животных [Калинина и др., 2014]. Важность этого семейства ферментов подтверждается тем, что их доля составляет не менее 1% от общего количества белка клетки [Salinas, Wong, 1999]. Потенциальная возможность использования ферментов, ускоряющих реакции конъюгации синтетических компонентов для защиты растений от повреждающего действия окислительного стресса, следовательно, от неблагоприятных абиотических факторов среды, спровоцировала рост интереса к данному семейству ферментов.

Ранние исследования глутатион-S-трансферазы кукурузы, показали, что действие ферментов обеспечивало устойчивость растения к таким гербицидам, как хлоротриазин, хлороацетанилид и тиокарбамат. Примечательно, что гораздо меньшее внимание было уделено изучению глутатион-S-трансфераз сорных растений, хотя и существует вероятность участия этих ферментов в гербицид-устойчивости сорняков [Cummins et al., 2010].

Глутатион-S-трансферазы катализируют реакцию взаимодействия трипептида глутатиона GSH и косубстрата (R-X), содержащего электрофильный центр, с формированием полярного S-глутатионилированного продукта реакции. Например, GST могут восстанавливать гидроперекиси до спиртов:  $ROOH + 2GSH \rightarrow ROH + GSSG + H_2O$  [Калинина и др., 2014]. Первоначальная классификация ферментов, которая учитывала лишь биохимические и иммунологические характеристики глутатион-S-трансфераз, оказалась неудобной, поэтому, для их классификации было предложено учитывать последовательность аминокислот.

Таким образом, глутатион-S-трансферазы животных были разделены на следующие классы:

- alpha –  $\alpha$  или A, mu –  $\mu$  или M, phi –  $\phi$  или F, участвующие в метаболизме лекарственных веществ;
- sigma –  $\sigma$  или S, функционирующие как простагландин синтазы (кроме головногих, где они являются S-кристаллинами хрусталика глаза);
- delta –  $\delta$  или D класс, являющийся специфичным для насекомых.

У человека семь классов глутатион-S-трансфераз -  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\zeta$ ,  $\theta$ ,  $\pi$ ,  $\sigma$ ,  $\omega$ , которые объединяют 17 изоформ [Колесов и др., 2016]. В бактериях были найдены специфичные для прокариот –  $\beta$  глутатион-S-трансферазы.

В соответствии с принятой номенклатурой, растительные глутатион-S-трансферазы делятся на следующие классы:

- zeta –  $\zeta$  или Z и theta –  $\theta$ , обнаруживаемые также в животных;
- tau –  $\tau$  или T и phi, специфичные для растений и наиболее многочисленны;
- lambda –  $\lambda$  или L класс глутатион-подобных генов, коиндуцируемых совместно с генами phi и tau классов глутатион-S-трансфераз, специфичен для растений [Dixon et al., 2002].
- дегидроаскорбатредуктазы, специфичные для растений, и тетрахлорогидрохинондегалогепаза [Liu et al., 2013].

Большое разнообразие изоформ является результатом дупликаций и делеций генов, наряду с одиночными полиморфизмами [Колесов и др., 2016]. Геном *A. thaliana* содержит 48 GST-подобных генов: 28 tau, 13 phi, 3 theta, 2 zeta, 2 lambda. В *A. thaliana* различают шесть семейств GST генов: *GST 1cDNA*, который индуцируется патогенной инфекцией; *GST 2cDNA*, регулирующий действие этилена; *ERD 13cDNA* индуцируется дегидратацией; *PM 239x14 cDNA*, кодирующий белок с глутатионпероксидазной активностью, который не использует  $H_2O_2$  как субстрат; *GST 5cDNA*, способный связывать ауксин; *GST6*, экспрессия которого находится под тканеспецифичным контролем и индуцируется ауксином, салициловой кислотой и  $H_2O_2$  [Yang et al., 1998].

Каждая молекула глутатион-S-трансферазы – димер, состоящий из субъединиц массой приблизительно 20-26 кДа, которые формируют гидрофобный протеин массой 50 кДа и изоэлектрической точкой в области pH 4-5 [Sheehan et al., 2001]. Они могут являться либо гомодимерами, то есть продуктами экспрессии одного гена, либо гетеродимерами, кодируемыми разными генами [Chronopoulou, Labrou, 2009]. В случае phi и tau GST субъединицы только одного и того же класса могут димеризоваться. Несмотря на сильные различия в аминокислотной последовательности между

классами GST, в целом, их структура удивительно схожа. В пределах одного класса белки могут кодироваться несколькими генами, что приводит к большому разнообразию вариантов экспрессируемых субъединиц [Борвинская и др., 2013].

Каждая субъединица глутатион-S-трансфераз состоит примерно из 200-250 аминокислотных остатков и содержит каталитический сайт, состоящий из двух компонентов. Первый – консервативный глутатион-связывающий сайт (G-сайт), образованный аминокислотными остатками N-конца полипептида. N-терминальный конец ( $\beta 1\alpha 1\beta 2(\alpha 2)\beta 3\beta 4\alpha 3$ ) – это центральная  $\beta$ -складчатость, фланкированная двумя  $\alpha$ -спиралями ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 3$ ) и с непостоянной петлей/спиралью ( $\alpha 2$ ), подобен тиоредоксину [Chronopoulou, Labrou, 2009]. Второй компонент – это сайт, связывающий гидрофобный субстрат (H-сайт), который более variabelен и сформирован остатками C-конца полипептида [Dixon et al., 2002]. H-сайт это полностью  $\alpha$ -спиральный участок, состоящий из 5  $\alpha$ -спиралей ( $\alpha 4 - 8$ ), либо из 6 ( $\alpha 4 - 9$ ), в случае глутатион-S-трансфераз  $\alpha$ ,  $\theta$ ,  $\omega$  классов [Калинина и др., 2014]. Для изоформ  $\theta$  класса характерно наличие между  $\alpha 4$  и  $\alpha 5$ -спиралями большой петли,  $\mu - \mu$  - петли на C-конце [Wu et al., 2012].

Между двумя доменами находится короткая вариабельная линкерная область, включающая 5-10 аминокислотных остатков, формирующих  $\alpha$ -спираль. Считается, что комплекс G и H сайта достаточно мобильный и способен к значительным конформационным изменениям при взаимодействии с различными субстратами [Dixon et al., 2002].

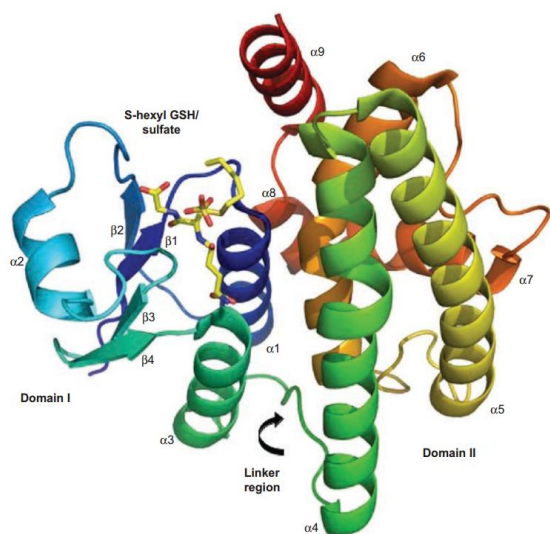


Рис. 1. Трехмерная структура растительных глутатион-S-трансфераз.

Сравнение трехмерных структур всех описанных на сегодняшний день растительных глутатион-S-трансфераз показало, что основные различия заключаются в  $\alpha 2$ -петле, линкерной области между доменами и в длине  $\alpha 9$ -спирали [Armstrong, 1997]. В  $\phi$  и  $\tau$  классах 4 аминокислотных остатка C-терминального конца всегда консервативны. Они обеспечивают взаимодействие между G-сайтом и глутатионом:

- Glu/Asp в позиции 65-72 связывается с глутаматом;
- Ser в позиции 66-73 также взаимодействует с глутаматом глутатиона;
- Val/ Ile в позиции 53-60 образует связь с цистеином;
- Lis/ Gln в позиции 40-46 – с глицином [Cummins et al., 2010].

В N-конце глутатион-S-трансфераз классов  $\delta$ ,  $\nu$ ,  $\theta$ ,  $\phi$ ,  $\tau$  и  $\zeta$  консервативным является остаток Ser (позиция 10-17);  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\pi$ ,  $\sigma$  – остаток Tyr;  $\omega$ ,  $\beta$  – остаток Cys [Chronopoulou, Labrou, 2009; Cummins et al., 2010]. Активные аминокислотные остатки вовлечены в стабилизацию глутатион-тиольного аниона и понижают константу диссоциации сульфгидрильной группы  $pK_a$  с 9,0 до 6,5 [Chronopoulou, Labrou, 2009].

Путем различных биохимических и иммунологических исследований было доказано, что растительные глутатион-S-трансферазы, в основном, локализируются в цитозоле [Dixon et al., 2009]. Способность к внутриклеточному перемещению в пласты или митохондрии обнаруживается лишь у GST классов  $\phi$  и  $\lambda$ . Микросомальные изоформы GST являются интегральными мембранными белками и называются MAPEG. GST микросом, в отличие от цитозольных, которые являются димерами, могут состоять из 1, 2, 3 субъединиц, или же мультимерны. Примером митохондриальной изоформы является GSTK1-1 [Калинина и др., 2014]. Для глутатион-S-трансфераз характерна некоторая тканеспецифичность. Так, в пыльце может содержаться только один тип изоформ GST, а в щитке – пять. Тканеспецифичность может проявляться при воздействии на организм химических веществ, например, изоформа ZmGSTF2, которая в нормальном состоянии экспрессируется лишь в корнях, появляется в листьях [Dixon et al., 2009].

Живые организмы постоянно подвергаются воздействию токсичных химических соединений, поэтому им для нормального существования необходимо стабильное функционирование систем, предотвращающих повреждение этими веществами. В условиях окислительного стресса АФК индуцирует повышение уровня GST, которые

метаболизируют токсические продукты перекисного окисления липидов, повреждающие ДНК и другие компоненты клеток [Liu et al., 2013]. Процесс биотрансформации токсических соединений у большинства живых организмов является двухфазным. Основным комплексом фазы I являются ферменты системы цитохрома P450 (CYP450), а фазы II – глутатион-S-трансферазы (GST) [Смирнов и др., 2015].

GST катализируют не только реакции конъюгации глутатиона с электрофильными компонентами, но и выполняют множество других функций. Например, некоторые изоформы GST вовлечены в биосинтез простагландинов, глутатион-зависимые реакции изомеризации (малеилацетата до фумарилацетата), катализируют распад токсических органических гидропероксидов, тем самым обеспечивая защиту от оксидативного стресса. Помимо этого, они, благодаря своим лиганд-связывающим способностям, участвуют в межклеточном транспорте и хранении ряда разнообразных гидрофобных лигандов, таких как гемм, билирубин, гормоны, флавоноиды, жирные

кислоты [Oakley, 2011]. Для глутатион-S-трансфераз характерна селективность по отношению к электрофильным субстратам, которые включают органические галогениды (рисунок 2а), эпоксиды, органические эфиры нитратов (рисунок 2б) и органические тиоцианаты [Mannervik et al., 1988].

Специфичные для растений  $\phi$  и  $\tau$  классы глутатион-S-трансфераз в большей степени ответственны за устойчивость к гербицидам, проявляя субстратную специфичность по отношению к хлортриацину и тиокарбамату и к дифенилиту и арилоксифенокипропионату соответственно. Это обусловлено их способностью катализировать образование конъюгатов гербицид-GSH [Edwards, Dixon, 2000].

В отличие от них  $\omega$  класс, вероятно из-за наличия в активном центре аминокислотного остатка цистеина, не способен к реакциям конъюгации. Однако они способны катализировать реакции распада таких соединений, как дегидроаскорбат, S-фенилацилглутатионы и соединения с мышьяком [Board, 2011].

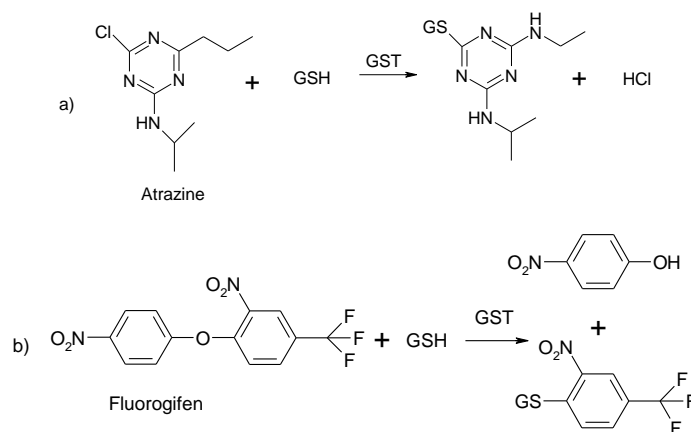


Рис.2. Взаимодействие глутатиона с различными классами гербицидов: а - атриазин (хлоротриазины), б - флюородифен (дифенилы), катализируемое глутатион-S-трансферазами.

На сегодняшний день активно изучаются также GST гидробионтов, участвующие в процессах биотрансформации ксенобиотиков, в связи с ухудшением условий их обитания в водоемах [Борвинская и др., 2009]. Предполагается в будущем использование гидробионтов с повышенной активностью GST для очистки загрязненной воды.

При воздействии на живые организмы неблагоприятных факторов абиотической природы в их клетках наблюдается индукция экспрессии генов GST. Такими факторами могут являться дегидратация, гербициды, повреждения, холод,

гипоксия,  $H_2O_2$ , УФ, фосфатное голодание, ионы металлов и повышенные концентрации солей [Sharma et al., 2014]. Экспрессия генов глутатион-S-трансфераз может также повышаться при воздействии биотических стрессовых факторов, таких как воздействие патогенов [ApeI et al., 2004].

Перспективность использования генетических конструкций, содержащих гены глутатион-S-трансфераз, для повышения устойчивости целевых растительных организмов к стрессовым факторам была доказана исследованиями как зарубежных, так и отечественных ученых.

Например, работы Toshikazu с соавт. с чувствительными к низким температурам сортами риса показали повышение их устойчивости при сверхэкспрессии в их клетках генов *GST* [Toshikazu et al., 2002]. Растения табака с конститутивной экспрессией генов *GST* характеризовались повышенной устойчивостью к окислительному стрессу [Roxas et al., 1997; Yu et al., 2003].

Так как одной из главных причин угнетения роста и развития сельскохозяйственных культур является засоление их сред обитания. Активные исследования ведутся для изучения влияния сверхэкспрессии генов *GST* на устойчивость растений к повышенным концентрациям солей [Мохамед, 2006]. Трансгенные по гену *OsGSTU1* риса (*Oryza sativa*) растения *A. thaliana* характеризовались повышенной устойчивостью к условиям засоления и к окислительному стрессу [Sharma et al., 2014], а трансгенные растения табака также и к холоду [Roxas et al., 1997].

Экспрессия гена *PjGST* (*Prosopis juliflora*) в растениях риса и табака приводила к развитию толерантности к солевому стрессу и к засухе [Fragoulaki et al., 2007]. Кожэкспрессия генов каталазы и глутатион-S-трансферазы в трансгенном рисе способствовала повышению их стрессоустойчивости за счет увеличения активности ферментов антиоксидантной защиты, а также приводила к увеличению числа придаточных корней растений [Чжао и др., 2010]. Сверхэкспрессия гена *PpGST* из плодов груши в трансгенных растениях табака способствовала повышению устойчивости к окислительному стрессу, вызванному недостатком влаги, действием NaCl и кадмия [Liu et al., 2013].

Известно, что ион  $Al^{3+}$ , оказывают токсический эффект как на растительные, так и на животные организмы при низких значениях pH. Основным признаком отравления растений этим ионом является ингибирование роста корней, сопровождаемое аккумулярованием  $Al^{3+}$  в клеточной стенке клеток корней. Предполагается, что ионы Al приводят к перекисному окислению фосфолипидов и белков клеточных мембран. Более того, Al связывается с ДНК и РНК ядра и подавляет синтез мРНК. Эти взаимодействия, в конечном счете, ингибируют клеточное деление и удлинение клеток корней. Исследования показали, что алюминиевый стресс, а также холод, высокие температуры и окислительный стресс, в разной степени индуцируют экспрессию генов глутатион-S-трансфераз, в частности *AtGST1* и *AtGST11*. Ген *AtGST1* конститутивно экспрессируется в малых количествах в клетках растения. Максимальная индукция экспрессии наблюдается преимущественно в листьях при абиотических стрессах, нежели при воздействии

Al. Экспрессия гена *AtGST11*, ничтожно малая при отсутствии стресса, резко возрастает при алюминиевом стрессе, причем как в листьях, так и в корнях растения [Ezaki et al., 2004].

В других экспериментах линии трансгенного хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.), экспрессирующие ген *GST Nt107*, оценивались на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам, таким как низкие температуры, повышенные концентрации NaCl, а также к воздействию гербицидов. Хотя в трансгенных проростках и наблюдалась увеличенная концентрация глутатион-S-трансфераз, которая была выше обычного уровня в 10 и 5 раз при нормальных и условиях засоления соответственно, сами ростки не показали повышенной устойчивости в стрессовых условиях. Эти результаты говорят о том, что экспрессия гена *GST Nt107* в хлопчатнике не обеспечивает достаточную защиту растений от окислительного стресса и, вероятно, лишь нарушает эндогенную антиоксидантную систему растений хлопчатника [Ginger et al., 2005; Dong et al., 2016].

Однако, растения табака, в которые методом агробактериальной трансформации был внедрен ген глутатион-S-трансферазы хлопчатника *GST-cr1* проявляли повышенную устойчивость к окислительному стрессу, индуцированному метилвиолетом [Yu et al., 2003]. Ген *ZmGSTU1* кукурузы, экспрессирующийся в клетках трансгенного табака и риса, придавал им устойчивость к гербицидам [Milligan et al., 2001; Chronopoulou, Labrou, 2009]. Имеются также свидетельства того, что сверхэкспрессия генов глутатион-S-трансфераз способствует улучшению антиоксидантного статуса клетки, напрямую не связанную с их способностью стимулировать образование конъюгатов глутатиона с электрофильными компонентами [Moons, 2015].

### Заключение

Глутатион совместно с глутатион-S-трансферазами – это важнейший компонент системы антиоксидантной защиты растений. Поэтому представляет большой интерес проведение экспериментальных работ по геной инженерии и редактированию генома, где в качестве мишени выступают гены ферментов биосинтеза глутатиона и глутатион-зависимых ферментов. В ходе ряда исследований показано, что сверхэкспрессия глутатионсинтеза, глутаматцистеин лигаз и глутатион-S-трансфераз в трансгенных растениях способствует повышению их стрессоустойчивости. Растения в природных условиях постоянно подвергаются воздействию стрессовых факторов, поэтому повышение их стрессоустойчивости



способствует также увеличению их продуктивности. Геномы растений содержат большое число генов ферментов биосинтеза глутатиона и глутатион-S-трансфераз и многие из них остаются неизученными. Некоторые из этих генов могут оказаться очень эффективными мишенями для увеличения стрессоустойчивости и продуктивности культурных растений. Особый интерес представляет изучение большого семейства генов глутатион-S-трансфераз, которые даже у *A. thaliana* остаются малоизученными. Причем эта группа генов должна быть изучена не только у модельных объектов, но и у хозяйственно ценных растений, а также стрессоустойчивых дикорастущих растений.

#### Литература

1. Борвинская Е.В., Смирнов Л.П., Немова Н.Н. Глутатион-S-трансферазы рыб – потенциальные эколого-биохимические индикаторы антропогенного воздействия на водную среду // Труды Карельского научного центра РАН. 2009. Т. 3. С. 8–19.
2. Борвинская Е.В., Смирнов Л.П., Немова Н.Н. Глутатион-S-трансферазы класса альфа из печени щуки // Биоорганическая химия. 2013. Т. 39. № 5. С. 558–564.
3. Загоскина Н.В., Назаренко Л.В. Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений // Вестник Московского городского педагогического университета. Серия: естественные науки. 2016. №22. С. 9–23.
4. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов // Успехи биологической химии. 2014. Т. 54. С. 316–324.
5. Колесов С.А., Рахманов Р.С., Блинова Т.В., Страхова Л.А. Новые данные о диагностических возможностях цитозольных глутатион-S-трансфераз // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. №3. С. 577–579.
6. Колупаев Ю.Е. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений // Успехи современной биологии. 2016. Т. 136. С. 181–198.
7. Мохамед А.М. Получение и исследование трансгенных растений рапса. М.: МСХА, 2006. С. 3–4.
8. Постригань Б.Н., Князев А.В., Кулуев Б.Р., Яхин О.И., Чемерис А.В. Активность синтетического псевдофитохелатинового гена в растениях табака // Физиология растений. 2012. Т.59. №2. С. 303–308.
9. Постригань Б.Н., Князев А.В., Кулуев Б.Р., Чемерис А.В. Влияние кадмия на активность промотора гена фитохелатинсинтазы риса в трансгенных растениях табака // Физиология растений. 2013. Т. 60. №5. С. 741–746.
10. Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Салаяев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. 2011. Т. 58. С. 177–185.
11. Смирнов Л.П., Борвинская Е.В., Кочнева А.А., Суховская И.В. Глутатион-S-трансферазы у гельминтов // Труды Карельского научного центра РАН. 2015. №11. С. 3–7.
12. Чжао Ф.Ю., Лю Т., Сюй Ч.Ц. Совместное действие солевого и теплового стрессов на рост корней и системы нейтрализации активных форм кислорода трансгенного риса // Физиология растений. 2010. Т. 57. №4. С. 556–563.
13. Alscher R.G. Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants // *Physiol Plantarum*. 1989. V. 77. P. 457–464.
14. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction // *Annu Rev. Biol.* 2004. V. 55. P. 373–399.
15. Armstrong R.N. Glutathione-S-transferases – structure and mechanism of an archetypical detoxication enzymes // *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 1994. V. 69. P. 1–44.
16. Avsian-Kretchmer O., Eshdat Y., Gueta-Dahan Y., Ben-Hayyim G. Regulation of stress-induced phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in citrus // *Planta*. 1999. V. 209. P. 469–477.
17. Board P.G. The omega-class glutathione transferases: structure, function and genetics // *Drug Metabolism Reviews*. 2011. V. 43. P. 226–235.
18. Chronopoulou E.G., Labrou E. Glutathione transferases: emerging multidisciplinary tools in red and green biotechnology // *Recent patents on biotechnology*. 2009. V.3. P. 211–223.
19. Clarkson T. Health effects of metals: a role for evolution // *Environ Health Perspect.* 1995. V. 103. P. 9–12.
20. Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis // *Planta*. 2001. V. 212. P. 475–486.
21. Cummins I., Dixon D., Skipsey M. Multiple roles for plant glutathione transferases in xenobiotic detoxification // *Drug Metabolism Reviews*. 2010. V. 43. P. 266–280.

22. Dixon D.P., Laphorn A., Edwards R. Plant glutathione transferases // *Genome Biology*. 2002. V. 3. P. 1–10.
23. Dixon D.P., Edwards R. Selective binding of glutathione conjugates of fatty acid derivatives by plant glutathione transferases // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. P. 249–256.
24. Dong Y., Li C., Zhang Y., He Q., Daud M.K., Chen J., Zhu S. Glutathione S-transferase gene family in *Gossypium raimondii* and *G. arboreum*: comparative genomic study and their expression under salt stress // *Frontiers in Plant Science*. 2016. V. 7. P. 139–145.
25. Edwards R., Dixon D.P. The role of glutathione transferases in herbicide metabolism // *Herbicides and Their Mechanisms*. 2000. V. 3. P. 38–71.
26. Ezaki B., Suzuki M., Motoda H., Kawamura M., Nakashima S., Matsumoto H. Mechanism of gene expression of *Arabidopsis* glutathione-S-transferase, *AtGST1*, and *AtGST11* in response to aluminum stress // *Plant Physiology*. 2004. V. 134. P. 1672–1682.
27. Flocco C.G., Lindblom S.D., Smits E.A. Overexpression of enzymes involved in glutathione synthesis enhances tolerance to organic pollutants in *Brassica juncea* // *Int. J. Phytoremediation*. 2004. V. 6. P. 289–304.
28. Foyer C.H., Souriau N., Perret S., Lelandais M., Kunert K.J., Pruvost C., Jouanin L. Overexpression of glutathione reductase but not glutathione synthetase leads to increases in antioxidant capacity and resistance to photoinhibition in poplar trees // *Plant Physiol.* 1995. V. 109. P. 1047–1057.
29. Fragoulaki M.N., Axarli I.A., Labrou N.E., Clonis Y.D. Recombinant glutathione S-transferase for the determination of the herbicide alachlor: The foundations of an optical biosensor. 1st UK-US Conference on Chemical and Biological Sensors and Detectors. London. 2007.
30. Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010. V. 48. P. 909–930.
31. Ginger G., Light Z., James R., Mahan V.P., Roxas Z., Randy D.A. Transgenic cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedlings expressing a tobacco glutathione S-transferase fail to provide improved stress tolerance // *Planta*. 2005. V. 222. P. 346–354.
32. Guo J., Dai X., Xu W., Ma M. Overexpressing GSH1 and AsPCS1 simultaneously increases the tolerance and accumulation of cadmium and arsenic in *Arabidopsis thaliana* // *Chemosphere*. 2008. V. 72. P. 1020–1026.
33. Ithayaraja C.M. Mini-review: metabolic functions and molecular structure of glutathione reductase. // *Intern. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2011. V. 9. P. 104–115.
34. Jez J.M., Cahoon R.E., Chen S. *Arabidopsis thaliana* glutamate-cysteine ligase: functional properties, kinetic mechanism, and regulation of activity. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 33463–33470.
35. Jez J.M., Cahoon R.E. Kinetic mechanism of glutathione synthetase from *Arabidopsis thaliana* // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 42726–42731.
36. Kamencic H., Lyon A., Paterson P.G., Juurink B.H. Monochlorobimane fluorometric method to measure tissue glutathione // *Anal. Biochem.* 2000. V. 286. P. 35–37.
37. Kidd P.M. Glutathione: systemic protectant against oxidative and free radical damage // *Altern. Med. Rev.* 1997. V. 2. P. 155–176.
38. Kim I.S., Shin S.Y., Kim Y.S., Kim H.Y., Yoon H.S. Expression of a glutathione reductase from *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* enhanced cellular redox homeostasis by modulating antioxidant proteins in *Escherichia coli* // *Mol. Cells*. 2009. V. 28. P. 479–487.
39. Lallement P.A., Brouwer B., Keech O., Hecker A., Rouhier N. The still mysterious roles of cysteine-containing glutathione transferases in plants // *Frontiers in Pharmacology*. 2014. V. 5.
40. Liedschulte V., Wachter A., Zhigang A., Rausch T. Exploiting plants for glutathione (GSH) production: Uncoupling GSH synthesis from cellular controls results in unprecedented GSH accumulation // *Plant Biotechnol. J.* 2010. V. 8. P. 807–820.
41. Liu L., Liu Y., Rao J., Wang G., Li H., Ge F., Chen C. Сверхэкспрессия гена глутатион-S-трансферазы из плодов *Pyrus pyrifolia* повышает устойчивость трансгенных растений табака к абиотическому стрессу // *Молекулярная биология*. 2013. Т. 47. С. 591–601.
42. Mannervik B., Danielson U.H. Glutathione transferases-structure and catalytic activity // *Critical Reviews in Biochemistry*. 1988. V. 23. P. 283–337.
43. Marrs K. The functions and regulation of glutathione-S-transferases in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1996. V. 47. P. 127–158.
44. Masella R., Benedetto R.D., Vari R., Filesi C., Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes // *J. Nutritional Biochemistry*. 2005. V. 16. P. 577–586.

45. Matamoros M.A., Moran J.F., Iturbe-Ormaetxe I., Rubio M.C., Becana M. Glutathione and homoglutathione synthesis in legume root nodules // *Plant Physiol.* 1999. V. 121. P. 879–888.
46. May M.J., Vernoux T., Leaver C., Montagu M., Inze D. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development // *J. Experimental Botany.* 1998. V. 49. P. 649–667.
47. Meyer A.J., May M.J., Fricker M. Quantitative *in vivo* measurement of glutathione in *Arabidopsis* cells // *J. Plant.* 2001. P. 67–78.
48. Meyer A.J., Fricker M.D. Control of demand-driven biosynthesis of glutathione in green *Arabidopsis* suspension culture cells // *Plant Physiol.* 2002. V. 130. P. 1927–1937.
49. Meyer A.J., Brach T., Marty L., Kreye S., Rouhier N. Redox-sensitive GFP in *Arabidopsis thaliana* is a quantitative biosensor for the redox potential of the cellular glutathione redox buffer // *Plant J.* 2007. V. 52. P. 973–986.
50. Milligan A.S., Daly A., Parry M., Lazzetti P., Jepson J. The expression of a maize glutathione S-transferases gene in transgenic wheat confers herbicide tolerance, both *in planta* and *in vitro* // *Molecular breeding.* 2001. V. 7. P. 301–315.
51. Moons A. Regulatory and functional interactions of plant growth regulators and plant glutathione S-transferases (GSTs) // *Vitamins and Hormones.* 2005. V. 72. P. 155–171.
52. Noctor G., Foyer C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1998. V. 49. P. 249–279.
53. Oakley A. J. Glutathione transferases: a structural perspective // *Drug Metabolism Reviews.* 2011. V. 43. P. 138–151.
54. Okumura R., Koizumi Y., Sekiya J. Synthesis of hydroxymethylglutathione from glutathione and L-serine catalyzed by carboxypeptidase // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2003. V. 67. P. 434–437.
55. Pompella A., Visvikis A., Paolicchi A., de Tata V., Casini A.F. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist // *Biochem. Pharmacol.* 2003. V. 66. P. 1499–1503.
56. Rea P.A. MRP subfamily ABC transporters from plants and yeast // *Journal of Experimental Botany.* 1999. V. 50. P. 895–913.
57. Rennenberg H. Glutathione metabolism and possible biological roles in higher plants // *Phytochemistry.* 1982. V. 21. P. 2771–2781.
58. Rogers L.K., Tamura T., Rogers B.J., Welty S.E., Hansen T.N., Smith C.V. Analyses of glutathione reductase hypomorphic mice indicate a genetic knockout // *Toxicol. Sci.* 2004. V. 82. P. 367–373.
59. Rouhier N., Lemaire S.D., Jacquot J.P. The role of glutathione in photosynthetic organisms: emerging functions for glutaredoxins and glutathionylation // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2008. V. 59. P. 143–166.
60. Roxas V.P., Smith R.K., Allen E.R., Allen R.D. Overexpression of glutathione S-transferase/glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress // *Nat. Biotechnol.* 1997. V.15. P. 988–991.
61. Salinas A.E., Wong M.G. Glutathione S-transferases // *Current Medicinal Chemistry.* 1999. V. 6. P. 279–309.
62. Sanchez-Fernandez R., Fricker M., Corben L., White N., Sheard N., Leaver C., Van Montagu M., Fuze D., May M. Cell proliferation and hair tip growth in the *Arabidopsis* root are under mechanistically different forms of redox control // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997. V. 94. P. 2745–2750.
63. Sharma R., Sahoo A., Devendran R., Jain M. Over-expression of a rice tau class glutathione S-transferases gene improves tolerance to salinity and oxidative stresses in *Arabidopsis* // *Public Library of Science.* 2014. V.3. P. 43–47.
64. Sheehan D., Meade G., Foley V.M., Dowd C.A. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily // *Biochem. J.* 2001. P. 1–16.
65. Sugiyama A., Sekiya J. Homoglutathione confers tolerance to acifluorfen in transgenic tobacco plants expressing soybean homoglutathione synthetase // *Plant Cell Physiol.* 2005. V. 46. P. 1428–1432.
66. Toshikazu T., Minako I., Hiroyuki K., Nanako K., Ikuo N. Over-expression of  $\zeta$  glutathione S-transferase in transgenic rice enhances germination and growth at low temperature // *Mol Breed.* 2002. V. 9. P. 93–101.
67. Wise R.R., Naylor A.W. Chilling-enhanced photooxidation: evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants // *Plant Physiol.* 1987. V. 83. P. 278–282.
68. Wu G., Fang Y.Z., Yang S., Lupton J.R., Turner N.D. Glutathione metabolism and its implications for health // *J Nutri.* 2004. V. 134. P. 489–492.
69. Wu B., Dong D. Human cytosolic glutathione transferases: structure, function, and drug discovery // *Trends in Pharmacological Sciences.* 2012. V. 33. P. 656–668.

70. Yang K.Y., Kim Y., Kim C.S., Guh J.O., Kim K.C., Cho B.H. Characterization of glutathione S-transferase gene AtGST1 in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell Reports. 1998. V. 17. C. 700–704.
71. Yu T., Li Y.S., Chen X.F., Hu J., Chang X. Transgenic tobacco plants over expressing cotton glutathione S-transferase (GST) show enhanced resistance to methyl viologen // J. Plant Physiol. 2003. V.160. P. 1305–1311.
72. Zhu Y.L., Pilon-Smits E.A.H., Jouanin L., Terry N. Overexpression of glutathione synthetase in Indian mustard enhances Cadmium accumulation and tolerance // Plant Physiol. 1999. V. 119. P. 73–80.

#### GLUTATHIONE AND GLUTATHIONE S-TRANSFERASES: KEY COMPONENTS OF THE ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM OF PLANTS

E.A. Baimuhametova<sup>1</sup>, R.M. Taipova<sup>1</sup>, B.R. Kuluev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bashkir State University, Ufa, elvina.baimuhametova@yandex.ru

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, kuluev@bk.ru

#### Resume

Complicated antioxidant system play an important role in the maintenance of intracellular homeostasis and stress resistance of plants. A key component of the plant antioxidant system is glutathione and its related enzymes the best known of which are the glutathione S-transferases. This review devoted to consideration of role of glutathione in plant cells and the functions of enzymes that use glutathione as a substrate during redox reactions. Study of glutathione biosynthetic enzymes and glutathione-S-transferases of great interest in plant biology, as such knowledge in this field can be used in practice to increase the productivity and stress tolerance of crop plants.

**Key words:** reactive oxygen species, glutathione, glutathione synthetase, glutamate cysteine ligase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, stress tolerance, transgenic plants