
КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

УДК 581.1

НЕГЕНОМНЫЕ ЭФФЕКТЫ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ: РОЛЬ ИОННЫХ КАНАЛОВ

Д. Е. СТРЕЛЬЦОВА¹⁾, М. А. ЧЕРНЫШ¹⁾,
П. В. ГРИУСЕВИЧ¹⁾, В. В. ДЕМИДЧИК¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

В организме животных стероидные гормоны реализуют физиологическое действие при помощи геномного и негеномного механизмов. Стероидные гормоны растений – брассиностероиды – способны индуцировать экспрессию ряда генов, но для них практически не описаны негеномные пути запуска физиологических эффектов. В настоящей работе выдвигается и теоретически обосновывается теория, согласно которой брассиностероиды, как и стероидные гормоны животных, могут реализовывать свои эффекты через негеномный путь в результате модулирования активности ионных каналов и мембранных рецепторов.

Ключевые слова: стероидные гормоны; брассиностероиды; негеномные эффекты; геномные эффекты, ионные каналы.

Образец цитирования:

Стрельцова ДЕ, Черныш МА, Гриусевич ПВ, Демидчик ВВ. Негеномные эффекты стероидных гормонов: роль ионных каналов. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019;3:3–12. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-3-12>

For citation:

Straltsova DY, Charnysh MA, Hryvusevich PV, Demidchik VV. Non-genomic effects of steroid hormones: role of ion channels. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2019;3:3–12. Russian. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-3-12>

Авторы:

Дарья Евгеньевна Стрельцова – ассистент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Мария Александровна Черныш – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

Полина Вацлавовна Гриусевич – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

Вадим Викторович Демидчик – доктор биологических наук, доцент; декан биологического факультета.

Authors:

Darya Y. Straltsova, assistant at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. straltsova@bsu.by

Maryia A. Charnysh, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. chernyshmaryia@gmail.com

Palina V. Hryvusevich, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. polinachikun@gmail.com

Vadim V. Demidchik, doctor of science (biology), docent; dean at the faculty of biology. dzemidchik@bsu.by

NON-GENOMIC EFFECTS OF STEROID HORMONES: ROLE OF ION CHANNELS

D. Y. STRALTSOVA^a, M. A. CHARNYSH^a,
P. V. HRYVUSEVICH^a, V. V. DEMIDCHIK^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: D. Y. Straltsova (straltsova@bsu.by)

In animals, steroid hormones can act using genomic and non-genomic mechanisms. Plant steroid hormones, brassinosteroids, are capable of inducing the expression of some gene ensembles, however their non-genomic pathways for triggering the physiological effects are still unclear. In this paper, we propose the hypothesis on existence of brassinosteroid non-genomic effects in plant cells. This non-genomic pathway could be due to modulation of ion channel activities and modification of membrane receptors.

Keywords: steroid hormones; brassinosteroids; non-genomic effects of hormones; genomic action of hormones; ion channels.

Введение

Важными регуляторными и сигнальными агентами у животных и растений являются стероидные гормоны [1; 2]. Диапазон их действующих концентраций весьма широк: 10^{-12} – 10^{-6} моль/л, при этом эффекты, вызываемые низкими уровнями, могут существенно отличаться от эффектов, индуцируемых высокими концентрациями [3; 4]. В этой связи в последние годы формируется мнение, согласно которому эффекты высоких и низких уровней стероидных гормонов индуцируются различными рецепторами и механизмами. Предполагается, что эффекты низких концентраций стероидов могут реализовываться так называемыми геномными механизмами, т. е. на уровне экспрессии генов (действие обнаруживается спустя часы, сутки), а влияние высоких концентраций подключает негеномные пути, опосредованные прямым воздействием на белковые системы (проявляются в течение нескольких минут) [5; 6].

Геномные механизмы обусловлены связыванием стероидных соединений со специфическими внутриклеточными рецепторами [7; 8]. Комплекс стероидного гормона и рецептора соединяется с ДНК и модулирует образование иРНК. В результате индуцируются стероидзависимые группы белков и происходит соответствующая перестройка метаболизма [7; 8]. В отличие от геномного пути негеномные эффекты не зависят от экспрессии генов, а реализуются в результате прямого влияния стероида на ферменты, белки-регуляторы, биомембраны и другие структурные элементы клетки [9; 10]. Предполагается, что некоторые процессы, традиционно рассматриваемые как «нецелевые» для стероидных гормонов, могут регулироваться данными веществами в результате негеномного действия [11]. Например, высокие уровни стероидных гормонов способны вызывать быструю вазодилатацию и повышать жизнеспособность нейронов [11].

Предложены три основных механизма негеномного действия стероидных гормонов [12; 13]. Во-первых, это влияние путем связывания со стероидными рецепторами плазматической мембраны, которое опосредуется аденилатциклазной сигнальной системой [14–17]. Взаимодействие стероидов с такими рецепторами может привести к активации протеиновых киназ, Ca^{2+} -каналов или стимулировать экзоцитоз [12; 13]. Во-вторых, действие через рецепторы некоторых нейромедиаторов, в частности гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК-рецептор) [12; 13]. В-третьих, это интеркалирование стероидов в мембраны клеток, в результате чего могут изменяться функции мембранных белков, в особенности сигнальных и транспортных [12; 13]. Например, эстроген и прогестерон снижают активность Na^+/K^+ -АТФаз, а прогестерон ингибирует Ca^{2+} -АТФазы. В то же время тестостерон повышает активность данных АТФаз [12; 13; 17–19]. Недавно было обнаружено, что классические рецепторы стероидов могут инициировать образование вторичных посредников или взаимодействовать с другими клеточными системами сигнализации [12–16]. В целом негеномные эффекты индуцируются многократно более высокими уровнями стероидных гормонов [3; 4]. В этом случае соответствующие активности в модельных лабораторных системах наблюдаются при 10^{-6} – 10^{-3} моль/л [3; 4]. В реальных природных условиях такие высокие уровни стероидов достигаются локально, главным образом в результате накопления их в биомембранах [17; 20].

Некоторые современные исследования предполагают существование в клетках животных систем «концентрирования» стероидных гормонов в мембранах клетки, что объясняет высокие значения действующих концентраций данных соединений для негеномных эффектов, регистрируемых *in vitro* [12; 13; 17; 20]. Согласно гипотезе, развиваемой рядом авторов [12; 13; 17; 20; 21], ионные каналы и их липидное окружение могут выступать сенсорными зонами биомембран, воспринимающими изменение концентрации стероидных гормонов в тканях и клетках. Ниже данная концепция рассмотрена детально.

Воздействие стероидных гормонов на ионные каналы животных

В последние два десятилетия было показано, что эндогенные стероиды являются регуляторами ионотропных рецепторов в центральной нервной системе [22–25]. Для стероидов с такими свойствами введен термин «нейроактивные стероиды», или нейростероиды [26; 27]. Они синтезируются в коре головного мозга, гиппокампе и миндалинах, являются регуляторами нервной возбудимости, обладают седативными, противотревожными, обезболивающими и противосудорожными свойствами, влияют на продолжительность жизни нейронов, развитие мозга, процессы обучения, поведение, а также ассоциированы со многими психическими заболеваниями [26; 27]. В то время как действие стероидов на геном требует периода времени от минут до часов, ограниченного скоростью биосинтеза белка и его посттрансляционной активации [28; 29], модулирующие эффекты нейростероидов проявляются в течение от миллисекунд до секунд [28; 29].

Накопленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что нейростероиды изменяют работу рецепторов нейротрансмиттеров и потенциалзависимых ионных каналов, таких как ГАМК-рецепторы, NMDA-рецепторы, AMPA-рецепторы, $\sigma 1$ -рецепторы, глициновые, каинатные, серотониновые (5-HT), никотиновые и мускариновые ацетилхолиновые рецепторы, а также Ca^{2+} -, Na^{+} -, K^{+} -каналов и анионных каналов (таблица) [24; 30–35]. Установлено, что различные эндогенные стероиды модулируют функции Cl^{-} -канала, ассоциированного с GABA_A -рецептором [34]. Например, аллопрегненолон, 5 α -андростан-3 α ,17 α -диол (адиол) и 3 α 5 α -тетрагидродеоксикортикостерон (3 α 5 α -THDOC) взаимодействуют с GABA_A -рецептором и активируют выход ионов хлора, что приводит к изменению мембранного потенциала и торможению возбуждающего импульса [24; 34; 35]. В то же время 3 β -ОН стероиды и прегненолон-сульфат (ПС) являются антагонистами GABA_A -рецепторов и индуцируют зависимое от активации ингибирование рецептора [24; 34; 35].

Примеры воздействия стероидных гормонов
на ионотропные рецепторы и ионные каналы клеток животных
Examples of steroid hormone action on ionotropic receptors and ion channels in animals

Ионный канал/ проводимость	Стероид	Эффект	Концентрация	Источник
ГАМК-рецепторы				
GABA_A -рецептор	Андростерон Тестостерон Андростенедиол	Усиление ГАМК-индуцированных токов	Супрафизиологические концентрации	[36]
	Дегидроэпиандростерон-сульфат (ДГЭАС) Дегидроэпиандростерон (ДГЭА)	Ингибирование ГАМК-индуцированных токов	Супрафизиологические концентрации	[36]
NMDA-рецепторы				
NR1-1a/NR2A и NR1-1a/NR2B-рецептор	ПС	Потенцирование, стимуляция гейтинга	21–33 мкмоль/л	[31; 37]
NR1-1a/NR2C- и NR1-1a/NR2D-рецептор	ПС	Блокирование рецепторов	62 мкмоль/л	[38]
Серотониновые рецепторы				
5-HT ₃	17 β -Эстрадиол Прогестерон	Блокирование вызываемых связыванием агониста с рецептором физиологических эффектов	10 мкмоль/л	[39]
Адренергические рецепторы				
α_2 -Адренергические рецепторы	ПС	Активация α_2 -адренергических рецепторов	0,1–3,0 мкмоль/л	[40]

Окончание таблицы
Ending table

Ионный канал/ проводимость	Стероид	Эффект	Концентрация	Источник
σ-Рецепторы				
σ-Рецепторы, связанные с G _{i/o} -белками	ПС	Опосредованное активацией рецептора и повышением цитоплазматической активности Ca ²⁺ высвобождение глутамата	≥ 10 мкмоль/л	[41]
АМРА-рецепторы и каинатные рецепторы				
Каинатные рецепторы	ДГЭА ДГЭАС	Ингибирование агонист- индуцированных токов	> 300 мкмоль/л	[36]
АМРА-рецепторы	ДГЭА ДГЭАС	Ингибирование агонист- индуцированных токов	> 300 мкмоль/л	[36]
Потенциалзависимые Ca²⁺-каналы				
Ca ²⁺ -каналы L-типа	Тестостерон Тестостерон	Блокирование Агонист	Физиологические концентрации (наномолярный диапазон) 10 мкмоль/л	[36; 42]
	5β-Дигидротестостерон Андростенедион	Ингибирование Повышение активности цитоплазматического Ca ²⁺	0,1–32,0 мкмоль/л 0,1–10,0 мкмоль/л	[36; 43] [36; 44]
Ca ²⁺ -каналы Т-типа	ДГЭА и его метаболиты	Ингибирование	2–8 мкмоль/л Супрафизиологические концентрации	[42; 43]
TRP-каналы				
TRPM3	ПС	Повышение цитоплазматической активности ионов Ca ²⁺	23 мкмоль/л	[44–46]
	ДГЭА	Повышение цитоплазматической активности ионов Ca ²⁺	30 мкмоль/л	
TRPC5	5α-Дигидротестостерон ДГЭАС	Подавление входа Ca ²⁺	Супрафизиологические концентрации (микромолярный диапазон концентраций)	[47]
TRPV1	ДГЭА ДГЭАС Эпиандростерон Эпиотихоланолон Тестостерон	Ингибирование	7 мкмоль/л 127 мкмоль/л 5 мкмоль/л 5 мкмоль/л 400 мкмоль/л	[48]
K⁺-каналы				
Ca ²⁺ -активируемые K ⁺ -каналы большой проводимости (BK _{Ca})	ДГЭА	Активация BK _{Ca}	Микромолярные концентрации	[49]
Потенциалзависимые Na⁺-каналы				
Потенциалзависимые Na ⁺ -каналы	ДГЭАС ДГЭА	Ингибирование	Супрафизиологические концентрации (микромолярный диапазон концентраций)	[50]
Cl⁻-каналы				
Cl ⁻ -каналы	Эстрогены Андрогены	Ингибирование	Супрафизиологические концентрации	[51–53]

Показано, что 5β -восстановленные нейростероиды могут выступать ингибиторами Ca^{2+} -каналов Т-типа в периферических нейронах крыс [32]. Прегненолон и эипрегненолон-сульфат способны потенцировать меластинный TRP-канал TRPM3 [33]. $(3\beta,5\beta,17\beta)$ -3-Гидроксиандростан-17-карбонитрил блокирует Ca^{2+} -каналы Т-типа, но не имеет прямого влияния на ГАМК-рецепторы или ионотропные глутаматные рецепторы [37]. Эстрогены могут оказывать стимулирующее и ингибирующее действие на Ca^{2+} -чувствительные K^+ -каналы высокой проводимости и Ca^{2+} -каналы L-типа [54]. Дигидротестостерон влияет на Ca^{2+} -каналы L-типа в желудочковых кардиомиоцитах человека [55]. Тестостерон увеличивает экскрецию Ca^{2+} с мочой и ингибирует экспрессию ванилоидного рецептора 5 (TRPV5) в почках и поддерживает гомеостаз Ca^{2+} [56].

В последние годы также продемонстрировано, что нейростероиды оказывают как потенцирующее, так и ингибирующее влияние на NMDA-рецепторы [30]. Взаимодействие нейростероидов с потенциалзависимыми анионными каналами играет роль в формировании пластичности синаптической передачи и регуляции апоптоза [36]. Показано, что гонадные стероиды (17β -эстрадиол и прогестерон) могут выступать в качестве функциональных антагонистов для 5-HT_3 -рецепторов [36; 39]. Функциональные антагонистические свойства для 5-HT_3 -рецепторов также выявлены для эстрадиола, этинилэстрадиола- 17β -эстрадиола, местранола, тестостерона и аллопрегненолона, но не для ПС и холестерина [30; 36].

Механизм влияния стероидов на ионотропные рецепторы нейронов хорошо изучен. Показано, что ПС и ДГЭАС не блокируют Cl^- -канал, ассоциированный с ГАМК_A-рецептором, а, по-видимому, изменяют конформацию рецептора, что, в свою очередь, способствует закрытию канала [57]. Также предполагается, что мембранные фосфолипиды могут участвовать в открытии каналов ГАМК_A-рецептора под действием стероидных гормонов [57]. Функциональная группа $3\alpha\text{-OH}$ стероидов, которая необходима для их взаимодействия с ГАМК_A-рецептором, нарушает систему водородных связей между стеролами и фосфолипидами или белками в мембране [57]. Такое воздействие может обусловить конформационное изменение канала и его гейтинг. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что стероиды способны управлять активностью ионотропных рецепторов через рецепторные белки и их липидное окружение.

Физиологические реакции в растительной клетке, вызываемые высокими уровнями brassinosterоидов

В геноме растений не обнаружено генов представителей суперсемейства ядерных стероидных рецепторов [58–60]. В настоящее время расшифрована структура и продемонстрированы многие функции рецепторов стероидных гормонов растений – BRI1 [58–61]. Показано, что BRI1 – это обогащенная лейциновыми повторами рецепторная киназа, локализованная в плазматической мембране (рис. 1) [58–61].

Обширные «молекулярные» связи системы сигнализации brassinosterоидов (БС) с другими сигнальными путями клетки демонстрируют высокую степень интеграции БС в регуляторных сетях растительного организма [62; 63]. Несмотря на большое количество работ, затрагивающих механизмы рецепции БС, имеются лишь спорадические сведения о негеномном механизме передачи их сигнала [64–68]. Например, продемонстрировано, что у риса 24-эпибрассинолид (1 мкмоль/л) может вызывать изменение экспрессии гена *BUL*, кодирующего образование белка – позитивного регулятора сигналов БС, в течение 15 мин с момента начала обработки [69].

В ряде работ продемонстрировано, что БС, как и стероидные гормоны животных, способны реализовывать свои эффекты посредством модулирования активности ионных каналов [64–68]. Показано, что БС в диапазоне концентраций $100\text{ нмоль/л} - 1\text{ мкмоль/л}$ могут повышать цитоплазматическую активность Ca^{2+} в листьях *Arabidopsis thaliana* L. Heynh., что указывает на возможность активации Ca^{2+} -проницаемых катионных каналов [64]. Также установлено, что DWARF1 – фермент, участвующий в биосинтезе БС, активируется Ca^{2+} /кальмодулином (CaM) [65]. В ряде работ показано, что Ca^{2+} -связывающий белок CaM может связываться с BRI1 и влиять на его активность [64; 65; 67]. Например, повышенная гетерологическая экспрессия CaM и цитозольного домена BRI1 в *E. coli* приводит к ингибированию автофосфорилирования и трансфосфорилирования BRI1 [64; 65]. Предполагается, что увеличение цитоплазматической активности Ca^{2+} может «выключать» трансдукцию сигнала БС в ходе взаимодействия CaM и BRI1 [64; 65].

В работе на суспензионных клетках *Arabidopsis thaliana* установлено, что 28-гомобрассинолид и 28-гомокастастерон в диапазоне концентраций $0,1-100,0\text{ мкмоль/л}$ способны модифицировать активность анионных каналов и наружувывпрямляющих K^+ -каналов плазматической мембраны [68]. При этом 28-гомобрассинолид ингибирует анионные каналы и активирует наружувывпрямляющие калиевые каналы, а 28-гомокастастерон подавляет активность обоих типов каналов [68].

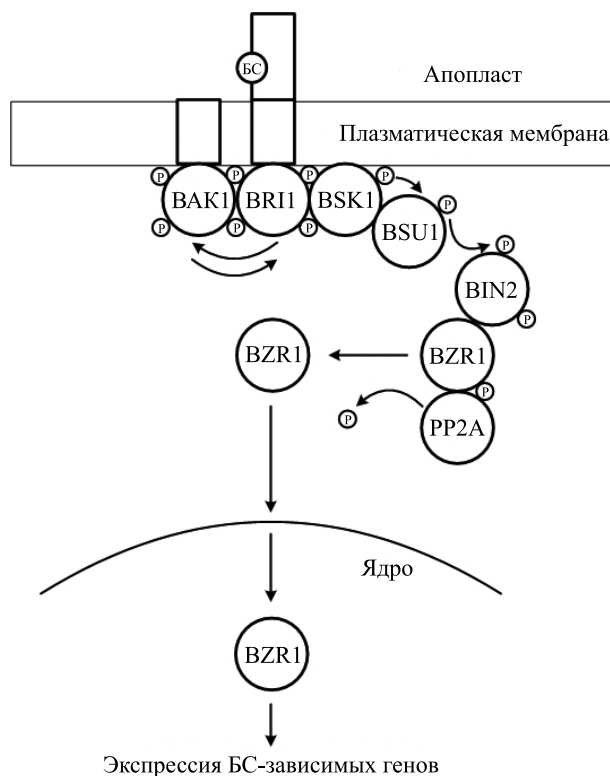


Рис. 1. Рецепция и передача сигнала БС.

После присоединения БС к BRI1 данный рецептор автофосфорилирует по серинтреониновым или тирозиновым остаткам. Для активного состояния рецептора также необходимо его взаимодействие и образование гетеродимера с корецептором серинтреониновой протеинкиназы BAK1. BRI1 и BAK1 могут взаимно фосфорилировать друг друга. BRI1, активированный автофосфорилированием после связывания БС, фосфорилирует киназы BSK1 и CDG1, которые, в свою очередь, взаимодействуют и фосфорилируют фосфатазу супрессор-1 BRI1, способную дефосфорилировать и ингибировать GSK3/SHAGGY-подобную протеинкиназу BIN2. Это приводит к накоплению в ядре нефосфорилированных факторов транскрипции BZR1 и BES1 и их последующему присоединению к ДНК и активации или подавлению экспрессии БС-зависимых генов

Fig. 1. Brassinosteroid perception and signal transduction.

Binding of brassinosteroid activates BRI1 kinase and causes autophosphorylation of BRI1 at serinethreonine or tyrosine. BRI1 interacts with BAK1 to induce the cross-phosphorylation at multiple residues. BRI1 activation recruits the co-receptor kinase BRI1-Associated Receptor Kinase1 (BAK1). Upon BR-induced activation, BRI1 phosphorylates members of plasma membrane-anchored cytoplasmic kinases, such as BSK1 and CDG1. This phosphorylation promotes BSK1 and CDG1 binding to and phosphorylation of the phosphatase BSU1. BSU1 inactivates the GSK3-like kinase BIN2 by dephosphorylating a conserved tyrosine residue. Then two homologous transcription factors BZR1 and BES1 are dephosphorylated. Dephosphorylated BZR1 and BES1 can then move into the nucleus and bind to promoters of target genes leading to their activation or repression

Гипотеза о негеномных механизмах действия БС

Анализ литературных данных показал, что БС влияют на важнейшие биологические процессы, такие как рост, метаболизм, клеточный транспорт и внутриклеточная сигнализация, биосинтез клеточной стенки, образование компонентов хроматина и цитоскелета, закрытие устьиц и др. [70–72]. Растения с нарушенным биосинтезом БС или растения, дефектные по трансдукции сигнала, характеризуются выраженными изменениями фенотипа [73–75]. В большом количестве работ указывается на то, что БС обладают стресс-протекторными свойствами и способны модулировать активность и количество различных непротеиногенных аминокислот, осмотиков, шаперонов, коротких пептидов, аминов и ферментов, ответственных за адаптацию к стрессовым воздействиям [76–79].

В последнее десятилетие сигналинг БС у растений активно изучался с помощью сочетания генетических, протеомных и геномных методов и подходов. Тем не менее пока неизвестны пути контроля эффектов широкого диапазона уровней БС в тканях и органах растения. Существует лишь небольшое количество данных о том, как путь БС интегрируется с другими процессами передачи сигналов и многими клеточными физиологическими явлениями, такими как рецепторные реакции, внутриклеточный транспорт, активность цитоскелета и т. д. [80–82]. Одним из центральных нерешенных вопросов в области исследования БС остается механизм быстрых реакций наподобие негеномных эффектов в клетках

животных, вызываемых данными стероидными гормонами, т. е. собственно непосредственных последствий взаимодействия с рецепторами, ионными каналами, активными транспортерами и другими мишенями. Имеются лишь единичные работы по выявлению влияния БС (микромольные и субмиллимольные уровни) на транспортные и сигнальные явления, опосредуемые ионными каналами в растительной клетке [64; 68; 83]. Систематического электрофизиологического анализа проводимостей плазматической мембраны, регулируемых БС, пока не проведено.

В физиологии растений устоялась концепция, согласно которой БС оказывают воздействие на растительную клетку в крайне низких концентрациях (начиная с 10^{-12} моль/л) [84–86]. Действительно, опыты, в которых гормоны вводились в таких концентрациях, показали небольшие физиологические модификации на уровне ростовых процессов и развития тканей и органов растений [84–86]. Тем не менее физиологическая значимость интактного пула БС в данном концентрационном диапазоне пока не продемонстрирована. Динамика уровня БС в клетке, его пространственное распределение пока остаются неисследованными. Не показано, например, что рецептор BRI1 способен взаимодействовать с БС в низких концентрациях с проявлением физиологической активности [61; 87]. Наоборот, уровни БС около 10^{-6} моль/л и выше были способны напрямую активировать сигнальные явления в модельных клеточных системах, в частности быстрый вход Ca^{2+} в цитоплазму [21; 64]. В то же время примеров быстрых сигнальных изменений при добавлении во внеклеточное пространство наномольных концентраций БС в литературе не отмечено. Это может быть связано с тем, что уровень БС в тканях анализировался тотально, в то время как распределение гормонов, вероятно, является неравномерным, возможно с местами высокого (хот-спотс) и низкого накопления.

Не решен также вопрос потенциального накопления БС в липидной фазе. Поскольку БС – это липофильные соединения, их аккумуляция в мембранах представляется вероятной. Тем более что примеры «концентрирования» стероидов отмечены у животных для эстрогенов [17; 20]. В этом случае локальная (хот-спот) концентрация БС в мембранах и около них может быть значительно выше тотального «органнизменного» уровня. Возможно, вблизи локализованного в плазматической мембране BRI1 уровни БС могут достигать высоких значений (вплоть до микромольных) (рис. 2). В подтверждение этих предположений другие известные типы рецепторов у высших растений проявляют активность в микромольном диапазоне активирующих лигандов [88–90].

На основе приведенных фактов можно выдвинуть гипотезу, согласно которой БС способны к локальному «концентрированию» в липидных компартментах и отдельных зонах клетки (хот-спотс), и вызывать изменения в работе ионных каналов и сигнальных путей, т. е. важнейших системах первичной индукции регуляторных сигналов и регуляции ионного баланса. Будущие исследования, в частности детальный анализ накопления БС в растительных мембранах и изучение их влияния на сигнальные пути клетки, смогут протестировать обоснованность данной гипотезы экспериментально.

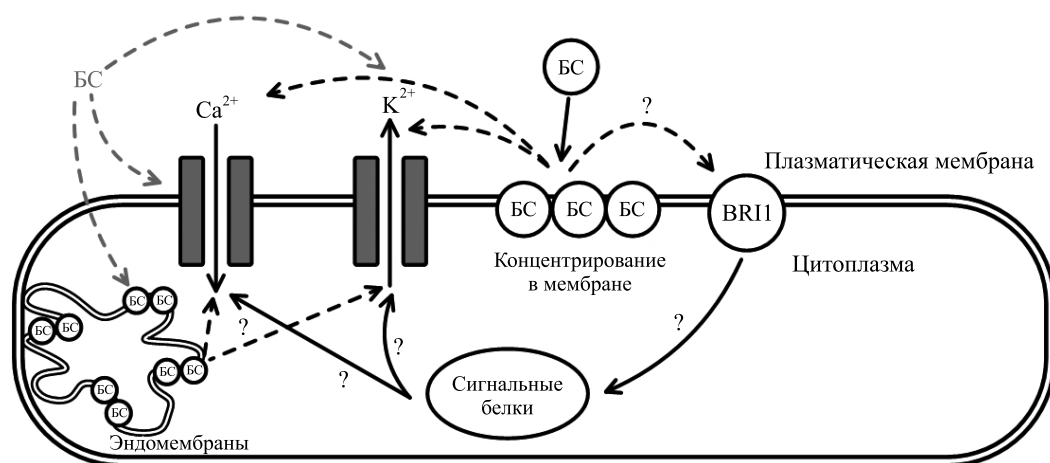


Рис. 2. Предполагаемые негеномные механизмы действия БС.

Возможно, БС, как и стероидные гормоны животных, могут реализовывать свои эффекты через негеномный путь – в результате модулирования активности ионных каналов и мембранных рецепторов. Предполагается, что БС способны к локальному «концентрированию» в липидных компартментах и могут вызывать изменения в работе ионных каналов и в дальнейшем опосредуемых ими сигнальных путей

Fig. 2. Hypothetical non-genomic action of brassinosteroids.

Hypothetically, non-genomic pathways of brassinosteroids are based on could due to the modulation of ion channel activities and other direct interactions with proteins or lipids in plant cells modification of membrane receptors. It can be suggested that brassinosteroids intercalate into the lipid compartments modulating ion channel activities and modifying processes of signal transduction

Библиографические ссылки / References

1. Rudolph LM, Cornil CA, Mittelman-Smith MA, Rainville JR, Remage-Healey L, Sinchak K, et al. Actions of steroids: new neurotransmitters. *The Journal of Neuroscience*. 2016;36(45):11449–11458. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2473-16.2016.
2. Bulun SE. Steroids, cytokines, and implantation. *Endocrinology*. 2017;158(6):1575–1576. DOI: 10.1210/en.2017-00407.
3. Wehling M. Specific, nongenomic actions of steroid hormones. *Annual Review of Physiology*. 1997;59:365–393. DOI: 10.1146/annurev.physiol.59.1.365.
4. Falkenstein E, Tillmann HC, Christ M, Feuring M, Wehling M. Multiple actions of steroid hormones – a focus on rapid, non-genomic effects. *Pharmacological Reviews*. 2000;52(4):513–556. PMID: 11121509.
5. Rolf L, Damoiseaux J, Hupperts R, Huitinga I, Smolders J. Network of nuclear receptor ligands in multiple sclerosis: common pathways and interactions of sex-steroids, corticosteroids and vitamin D3-derived molecules. *Autoimmunity Reviews*. 2016;15(9):900–910. DOI: 10.1016/j.autrev.2016.07.002.
6. Barabás K, Godó S, Lengyel F, Ernszt D, Pál J, Ábrahám IM. Rapid non-classical effects of steroids on the membrane receptor dynamics and downstream signaling in neurons. *Hormones and Behavior*. 2018;104:183–191. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2018.05.008.
7. Wang C, Liu Y, Cao J-M. G protein-coupled receptors: extranuclear mediators for the non-genomic actions of steroids. *International Journal of Molecular Sciences*. 2014;15(9):15412–15425. DOI: 10.3390/ijms150915412.
8. Hampl R, Kubátová J, Stárka L. Steroids and endocrine disruptors – history, recent state of art and open questions. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2016;155(Part B):217–223. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2014.04.013.
9. Weng JH, Chung BC. Nongenomic actions of neurosteroid pregnenolone and its metabolites. *Steroids*. 2016;111:54–59. DOI: 10.1016/j.steroids.2016.01.017.
10. Falkenstein E, Wehling M. Nongenomically initiated steroid actions. *European Journal of Clinical Investigation*. 2000;30 Supplement 3:51–54. DOI: 10.1046/j.1365-2362.2000.0300s3051.x.
11. Simoncini T, Genazzani AR. Non-genomic actions of sex steroid hormones. *European Journal of Endocrinology*. 2003;148(3):281–292. DOI: 10.1530/eje.0.1480281.
12. Whiting KP, Restall CJ, Brain PF. Steroid hormone-induced effects on membrane fluidity and their potential roles in non-genomic mechanisms. *Life Sciences*. 2000;67(7):743–757. DOI: 10.1016/S0024-3205(00)00669-X.
13. Abboud R, Charcosset C, Greige-Gerges H. Biophysical methods: complementary tools to study the influence of human steroid hormones on the liposome membrane properties. *Biochimie*. 2018;153:13–25. DOI: 10.1016/j.biochi.2018.02.005.
14. Kelly MJ, Lagrange AH, Wagner EJ, Rønnekleiv OK. Rapid effects of estrogen to modulate G protein-coupled receptors via activation of protein kinase A and protein kinase C pathways. *Steroids*. 1999;64(1–2):64–75. DOI: 10.1016/S0039-128X(98)00095-6.
15. Estrada M, Liberona JL, Miranda M, Jaimovich E. Aldosterone- and testosterone-mediated intracellular calcium response in skeletal muscle cell cultures. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*. 2000;279(1):132–139. DOI: 10.1152/ajpendo.2000.279.1.E132.
16. Kelly MJ, Qiu J, Wagner EJ, Rønnekleiv OK. Rapid effects of estrogen on G protein-coupled receptor activation of potassium channels in the central nervous system (CNS). *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2002;83(1–5):187–193. DOI: 10.1016/S0960-0760(02)00249-2.
17. Wenz JJ. Molecular properties of steroids involved in their effects on the biophysical state of membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2015;1848(10 Part A):2448–2459. DOI: 10.1016/j.bbamem.2015.07.017.
18. Deliconstantinos G, Fotiou S. Sex steroid and prostaglandin interactions upon the purified rat myometrial plasma membranes. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 1986;45(2–3):149–156. DOI: 10.1016/0303-7207(86)90142-5.
19. Deliconstantinos G. Structure activity relationship of cholesterol and steroid hormones with respect to their effects on the Ca²⁺-stimulated ATPase and lipid fluidity of synaptosomal plasma membranes from dog and rabbit brain. *Comparative Biochemistry & Physiology. Part B: Comparative Biochemistry*. 1988;89(3):585–594. DOI: 10.1016/0305-0491(88)90178-2.
20. Wenz JJ. Predicting the effect of steroids on membrane biophysical properties based on the molecular structure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2012;1818(3):896–906. DOI: 10.1016/j.bbamem.2011.12.021.
21. Straltsova D, Chykyun P, Subramaniam S, Sosan A, Kolbanov D, Sokolik A, et al. Cation channels are involved in brassinosteroid signalling in higher plants. *Steroids*. 2015;97:98–106. DOI: 10.1016/j.steroids.2014.10.008.
22. Cheng WWL, Chen ZW, Bracamontes JR, Budelier MM, Krishnan K, Shin DJ, et al. Mapping two neurosteroid-modulatory sites in the prototypic pentameric ligand-gated ion channel GLIC. *Journal of Biological Chemistry*. 2018;293(8):3013–3027. DOI: 10.1074/jbc.RA117.000359.
23. Chen ZW, Bracamontes JR, Budelier MM, Germann AL, Shin DJ, Kathiresan K, et al. Multiple functional neurosteroid binding sites on GABA_A receptors. *PLOS Biology*. 2019;17(3):e3000157. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000157.
24. Carta MG, Paribello P, Preti A. How promising is neuroactive steroid drug discovery? *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2018;13(11):993–995. DOI: 10.1080/17460441.2018.1518974.
25. Gunn BG, Cunningham L, Mitchell SG, Swinny JD, Lambert JJ, Belelli D. GABA_A receptor-acting neurosteroids: a role in the development and regulation of the stress response. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2015;36:28–48. DOI: 10.1016/j.yfrne.2014.06.001.
26. Porcu P, Barron AM, Frye CA, Walf AA, Yang SY, He XY, et al. Neurosteroidogenesis today: novel targets for neuroactive steroid synthesis and action and their relevance for translational research. *Journal of Neuroendocrinology*. 2016;28(2):12351. DOI: 10.1111/jne.12351.
27. Joksimovic SL, Covey DF, Jevtovic-Todorovic V, Todorovic SM. Neurosteroids in pain management: a new perspective on an old player. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9:1127. DOI: 10.3389/fphar.2018.01127.
28. Wilkenfeld SR, Lin C, Frigo DE. Communication between genomic and non-genomic signaling events coordinate steroid hormone actions. *Steroids*. 2018;133:2–7. DOI: 10.1016/j.steroids.2017.11.005.
29. Schverer M, Lanfumey L, Baulieu E-E, Froger N, Villey I. Neurosteroids: non-genomic pathways in neuroplasticity and involvement in neurological diseases. *Pharmacology & Therapeutics*. 2018;191:190–206. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.06.011.
30. Holubova K, Nekovarova T, Pistovcakova J, Sulcova A, Stuchlik A, Vales K. Pregnanolone glutamate, a novel use-dependent NMDA receptor inhibitor, exerts antidepressant-like properties in animal models. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2014;16(8):130. DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00130.
31. Vyklicky V, Krausova B, Cerny J, Balik A, Zapotocky M, Novotny M, et al. Block of NMDA receptor channels by endogenous neurosteroids: implications for the agonist induced conformational states of the channel vestibule. *Scientific Reports*. 2015;5:10935. DOI: 10.1038/srep10935.

32. Atluri N, Joksimovic SM, Oklopčić A, Milanovic D, Klawitter J, Eggan P, et al. A neurosteroid analogue with T-type calcium channel blocking properties is an effective hypnotic, but is not harmful to neonatal rat brain. *British Journal of Anaesthesia*. 2018;120(4):768–778. DOI: 10.1016/j.bja.2017.12.039.
33. Sághy É, Szőke É, Payrits M, Helyes Z, Börzsei R, Erőstyák J, et al. Evidence for the role of lipid rafts and sphingomyelin in Ca^{2+} -gating of transient receptor potential channels in trigeminal sensory neurons and peripheral nerve terminals. *Pharmacological Research*. 2015;100:101–116. DOI: 10.1016/j.phrs.2015.07.028.
34. Darbandi-Tonkabon R, Manion BD, Hastings WR, Craigen WJ, Akk G, Bracamontes JR, et al. Neuroactive steroid interactions with voltage-dependent anion channels: lack of relationship to GABA_A receptor modulation and anesthesia. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2004;308(2):502–511. DOI: 10.1124/jpet.103.058123.
35. Tuem KB, Atey TM. Neuroactive steroids: receptor interactions and responses. *Frontiers in Neurology*. 2017;8:442. DOI: 10.3389/fneur.2017.00442.
36. Hill M, Dušková M, Stárka L. Dehydroepiandrosterone, its metabolites and ion channels. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2015;145:293–314. DOI: 10.1016/j.jsmb.2014.05.006.
37. Ogden KK, Traynelis SF. New advances in NMDA receptor pharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2011;32(12):726–733. DOI: 10.1016/j.tips.2011.08.003.
38. Horak M, Vlcek K, Chodounska H, Vyklicky LJr. Subtype-dependence of N-methyl-D-aspartate receptor modulation by pregnenolone sulfate. *Neuroscience*. 2006;137(1):93–102. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2005.08.058.
39. Thompson AJ, Lummis SCR. 5-HT₃ receptors. *Current Pharmaceutical Design*. 2006;12(28):3615–3630. DOI: 10.2174/138161206778522029.
40. Wang ZM, Qi YJ, Wu PY, Zhu Y, Dong YL, Cheng ZX, et al. Neuroactive steroid pregnenolone sulphate inhibits long-term potentiation via activation of α_2 -adrenoreceptors at excitatory synapses in rat medial prefrontal cortex. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2008;11(5):611–624. DOI: 10.1017/S1461145707008334.
41. Meyer DA, Carta M, Partridge LD, Covey DF, Valenzuela CF. Neurosteroids enhance spontaneous glutamate release in hippocampal neurons. Possible role of metabotropic σ_1 -like receptors. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(32):28725–28732. DOI: 10.1074/jbc.M202592200.
42. Alvarez E, Cairão E, Morgado M, Morais C, Verde I. Testosterone and cholesterol vasodilation of rat aorta involves L-type calcium channel inhibition. *Advances in Pharmacological Sciences*. 2010;2010:534184. DOI: 10.1155/2010/534184.
43. Montañó LM, Calixto E, Figueroa A, Flores-Soto E, Carbajal V, Perusquia M. Relaxation of androgens on rat thoracic aorta: testosterone concentration dependent agonist/antagonist L-type Ca^{2+} channel activity, and 5 β -dihydrotestosterone restricted to L-type Ca^{2+} channel blockade. *Endocrinology*. 2008;149(5):2517–2526. DOI: 10.1210/en.2007-1288.
44. Machelon V, Nome F, Tesarik J. Nongenomic effects of androstenedione on human granulosa luteinizing cells. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998;83(1):263–269. DOI: 10.1210/jcem.83.1.4523.
45. Scragg JL, Jones RD, Channer KS, Jones TH, Peers C. Testosterone is a potent inhibitor of L-type Ca^{2+} channels. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2004;318(2):503–506. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.04.054.
46. Perez-Reyes E. Molecular physiology of low-voltage-activated t-type calcium channels. *Physiological Reviews*. 2003;83(1):117–161. DOI: 10.1152/physrev.00018.2002.
47. Chen SC, Chang TJ, Wu FS. Competitive inhibition of the capsaicin receptor mediated current by dehydroepiandrosterone in rat dorsal root ganglion neurons. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2004;311(2):529–536. DOI: 10.1124/jpet.104.069096.
48. Majeed Y, Amer MS, Agarwal AK, McKeown L, Porter KE, O'Regan DJ, et al. Stereo-selective inhibition of transient receptor potential TRPC5 cation channels by neuroactive steroids. *British Journal of Pharmacology*. 2011;162(7):1509–1520. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01136.x.
49. King JT, Lovell PV, Rishniw M, Kotlikoff MI, Zeeman ML, McCobb DP. β_2 and β_4 subunits of BK channels confer differential sensitivity to acute modulation by steroid hormones. *Journal of Neurophysiology*. 2006;95(5):2878–2888. DOI: 10.1152/jn.01352.2005.
50. Horishita T, Ueno S, Yanagihara N, Sudo Y, Uezono Y, Okura D, et al. Inhibition by pregnenolone sulphate, a metabolite of the neurosteroid pregnenolone, of voltage-gated sodium channels expressed in *Xenopus* Oocytes. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2012;120(1):54–58. DOI: 10.1254/jphs.12106SC.
51. Hardy SP, Valverde MA. Novel plasma membrane action of estrogen and antiestrogens revealed by their regulation of a large conductance chloride channel. *FASEB Journal*. 1994;8(10):760–765. DOI: 10.1096/fasebj.8.10.8050676.
52. Li Z, Niwa Y, Sakamoto S, Chen X, Nakaya Y. Estrogen modulates a large conductance chloride channel in cultured porcine aortic endothelial cells. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2000;35(3):506–510. DOI: 10.1097/00005344-200003000-00023.
53. Leung GP, Cheng-Chew SB, Wong PY. Nongenomic effect of testosterone on chloride secretion in cultured rat efferent duct epithelia. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 2001;280(5):C1160–C1167. DOI: 10.1152/ajpcell.2001.280.5.C1160.
54. Kow LM, Pfaff DW. Rapid estrogen actions on ion channels: a survey in search for mechanisms. *Steroids*. 2016;111:46–53. DOI: 10.1016/j.steroids.2016.02.018.
55. Er F, Gassanov N, Brandt MC, Madershahian N, Hoppe UC. Impact of dihydrotestosterone on L-type calcium channels in human ventricular cardiomyocytes. *Endocrine Research*. 2009;34(3):59–67. DOI: 10.1080/07435800903136953.
56. Na T, Peng JB. TRPV5: a Ca^{2+} channel for the fine-tuning of Ca^{2+} reabsorption. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2014;222:321–357. DOI: 10.1007/978-3-642-54215-2_13.
57. Majewska MD. Steroids and ion channels in evolution: from bacteria to synapses and mind. Evolutionary role of steroid regulation of GABA(A) receptors. *Acta Neurobiologiae Experimentalis Journal*. 2007;67(3):219–233. PMID: 17957902.
58. Li J. Brassinosteroids signal through two receptor-like kinases. *Current Opinion in Plant Biology*. 2003;6(5):494–499. DOI: 10.1016/S1369-5266(03)00088-8.
59. Jaillais Y, Vert G. Brassinosteroid signaling and BRI1 dynamics went underground. *Current Opinion in Plant Biology*. 2016;33:92–100. DOI: 10.1016/j.pbi.2016.06.014.
60. Wang W, Bai M-Y, Wang Z-Y. The brassinosteroid signaling network – a paradigm of signal integration. *Current Opinion in Plant Biology*. 2014;21:147–153. DOI: 10.1016/j.pbi.2014.07.012.
61. Bojar D, Martinez J, Santiago J, Rybin V, Bayliss R, Hothorn M. Crystal structures of the phosphorylated BRI1 kinase domain and implications for brassinosteroid signal initiation. *Plant Journal*. 2014;78(1):31–43. DOI: 10.1111/tpj.12445.

62. Nolan T, Chen J, Yin Y. Cross-talk of brassinosteroid signaling in controlling growth and stress responses. *Biochemical Journal*. 2017;474(16):2641–2661. DOI: 10.1042/BCJ20160633.
63. Li Q-F, He J-X. Mechanisms of signaling crosstalk between brassinosteroids and gibberellins. *Plant Signaling & Behavior*. 2013;8(7):e24686. DOI: 10.4161/psb.24686.
64. Zhao Y, Qi Z, Berkowitz GA. Teaching an old hormone new tricks: cytosolic Ca^{2+} elevation involvement in plant brassinosteroid signal transduction cascades. *Plant Physiology*. 2013;163(2):555–565. DOI: 10.1104/pp.112.213371.
65. Du L, Poovaiah BW. Ca^{2+} /calmodulin is critical for brassinosteroid biosynthesis and plant growth. *Nature*. 2005;437(7059):741–745. DOI: 10.1038/nature03973.
66. Singla B, Chugh A, Khurana JP, Khurana P. An early auxin-responsive Aux/IAA gene from wheat (*Triticum aestivum*) is induced by epibrassinolide and differentially regulated by light and calcium. *Journal of Experimental Botany*. 2006;57(15):4059–4070. DOI: 10.1093/jxb/erl182.
67. Oh MH, Kim HS, Wu X, Clouse SD, Zielinski RE, Huber SC. Calcium/calmodulin inhibition of the *Arabidopsis* BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE 1 receptor kinase provides a possible link between calcium and brassinosteroid signalling. *Biochemical Journal*. 2012;443(2):515–523. DOI: 10.1042/BJ20111871.
68. Zhang Z, Ramirez J, Reboutier D, Brault M, Trouverie J, Pennarun AM, et al. Brassinosteroids regulate plasma membrane anion channels in addition to proton pumps during expansion of *Arabidopsis thaliana* cells. *Plant and Cell Physiology*. 2005;46(9):1494–1504. DOI: 10.1093/pcp/pci162.
69. Tanaka A, Nakagawa H, Tomita C, Shimatani Z, Ohtake M, Nomura T, et al. BRASSINOSTEROID UPREGULATED1, encoding a helix-loop-helix protein, is a novel gene involved in brassinosteroid signaling and controls bending of the lamina joint in rice. *Plant Physiology*. 2009;151(2):669–680. DOI: 10.1104/pp.109.140806.
70. Planas-Riverola A, Gupta A, Betegón-Putze I, Bosch N, Ibañes M, Caño-Delgado AI. Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development*. 2019;146(5):dev151894. DOI: 10.1242/dev.151894.
71. Lozano-Durán R, Zipfel C. Trade-off between growth and immunity: role of brassinosteroids. *Trends in Plant Science*. 2015;20(1):12–19. DOI: 10.1016/j.tplants.2014.09.003.
72. Wei Z, Li J. Brassinosteroids regulate root growth, development, and symbiosis. *Molecular Plant*. 2016;9(1):86–100. DOI: 10.1016/j.molp.2015.12.003.
73. Chen E, Zhang X, Yang Z, Zhang C, Wang X, Ge X, et al. BR deficiency causes increased sensitivity to drought and yield penalty in cotton. *Plant Biology*. 2019;19(1):220. DOI: 10.1186/s12870-019-1832-9.
74. Song X-J. Crop seed size: BR matters. *Molecular Plant*. 2017;10(5):668–669. DOI: 10.1016/j.molp.2017.04.007.
75. Zhu ZX, Zhu XF, Zhu YT, Yao DN, Xuan YH. Interaction between photoreceptors and BR signaling in *Arabidopsis*. *Acta Biologica Cracoviensis. Series: Botanica*. 2014;56(2):126–135. DOI: 10.2478/abcsb-2014-0027.
76. Pandey P, Irulappan V, Bagavathiannan MV, Senthil-Kumar M. Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8:537. DOI: 10.3389/fpls.2017.00537.
77. Foyer CH, Rasool B, Davey JW, Hancock RD. Cross-tolerance to biotic and abiotic stresses in plants: a focus on resistance to aphid infestation. *Journal of Experimental Botany*. 2016;67(7):2025–2037. DOI: 10.1093/jxb/erw079.
78. Oosten MJV, Pepe O, De Pascale S, Silletti S, Maggio A. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2017;4:5. DOI: 10.1186/s40538-017-0089-5.
79. Saitanis CJ, Lekkas DV, Agathokleous E, Flouri F. Screening agrochemicals as potential protectants of plants against ozone phytotoxicity. *Environmental Pollution*. 2015;197:247–255. DOI: 10.1016/j.envpol.2014.11.013.
80. Kühn C. Review: post-translational cross-talk between brassinosteroid and sucrose signaling. *Plant Science*. 2016;248:75–81. DOI: 10.1016/j.plantsci.2016.04.012.
81. Lanza M, Garcia-Ponce B, Castrillo G, Catarecha P, Sauer M, Rodriguez-Serrano M, et al. Role of actin cytoskeleton in brassinosteroid signaling and in its integration with the auxin response in plants. *Developmental Cell*. 2012;22(6):1275–1285. DOI: 10.1016/j.devcel.2012.04.008.
82. Lozano-Elena F, Planas-Riverola A, Vilarrasa-Blasi J, Schwab R, Caño-Delgado AI. Paracrine brassinosteroid signaling at the stem cell niche controls cellular regeneration. *Journal of Cell Science*. 2018;131:jcs204065. DOI: 10.1242/jcs.204065.
83. Azhar N, Su N, Shabala L, Shabala S. Exogenously applied 24-epibrassinolide (EBL) ameliorates detrimental effects of salinity by reducing K^{+} efflux via depolarization-activated K^{+} channels. *Plant and Cell Physiology*. 2017;58(4):802–810. DOI: 10.1093/pcp/pcx026.
84. Arora N, Bhardwaj R, Sharma P, Arora HK. 28-Homobrassinolide alleviates oxidative stress in salt treated maize (*Zea mays* L.) plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 2008;20(2):153–157. DOI: 10.1590/S1677-04202008000200007.
85. Kagale S, Divi UK, Krochko JE, Keller WA, Krishna P. Brassinosteroids confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses. *Planta*. 2007;225(2):353–364. DOI: 10.1007/s00332-007-0353-3.
86. Bajguz A, Piotrowska-Niczyporuk A. Interactive effect of brassinosteroids and cytokinins on growth, chlorophyll, monosaccharide and protein content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiphyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*. 2014;80:176–183. DOI: 10.1016/j.plaphy.2014.04.009.
87. Kinoshita T, Caño-Delgado A, Seto H, Hiranuma S, Fujioka S, Yoshida S, et al. Binding of brassinosteroids to the extracellular domain of plant receptor kinase BRI1. *Nature*. 2005;433(7022):167–171. DOI: 10.1038/nature03227.
88. Savelieva EM, Oslovsky VE, Karlov DS, Kurochkin NN, Getman IA, Lomin SN, et al. Cytokinin activity of N^6 -benzyladenine derivatives assayed by interaction with the receptors in planta, *in vitro*, and *in silico*. *Phytochemistry*. 2018;149:161–177. DOI: 10.1016/j.phytochem.2018.02.008.
89. Uzunova VV, Quareshy M, del Genio CI, Napier RM. Tomographic docking suggests the mechanism of auxin receptor TIR1 selectivity. *Open Biology*. 2016;6(10):160139. DOI: 10.1098/rsob.160139.
90. Quareshy M, Uzunova V, Prusinska JM, Napier RM. Assaying auxin receptor activity using SPR assays with F-box proteins and Aux/IAA degrons. *Methods in Molecular Biology*. 2017;1497:159–191. DOI: 10.1007/978-1-4939-6469-7_15.