

Генетика развития растений

Развитие =
рост + дифференцировка

Развитие клетки,
ткани, органа
(морфогенез)

изменение вектора
силы тяжести,
вектора освещения



Ауксины
(«гормоны направлений»)



изменение
вектора роста
органов

источники
минерального
питания



Цитокинины
(«гормоны деления клеток»)



формирование
новых побегов

свет,
температура



Гиббереллины
(стимуляторы вегетативного
и генеративного развития)



проращание,
рост, цветение

механические
повреждения



Этилен
(«гормон стресса»)



защитные
реакции,
старение, ПКС

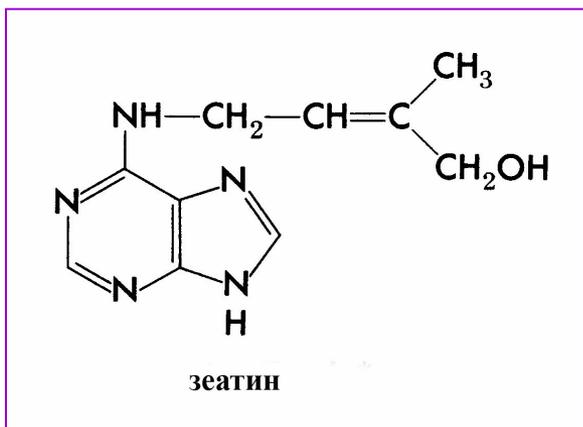
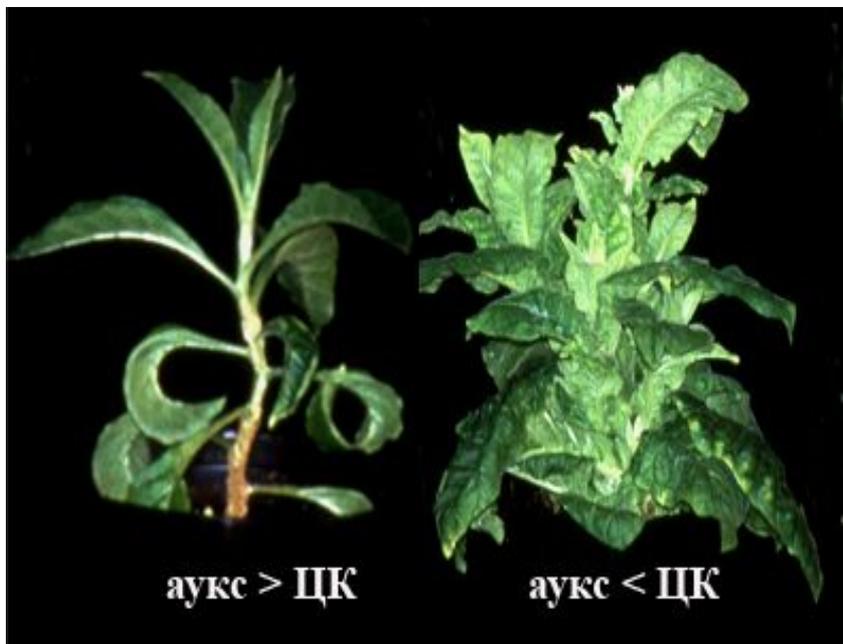
дефицит воды,
снижение
концентрации
гиббереллинов,
цитокининов и
ауксинов



АБК
(«гормон покоя»)

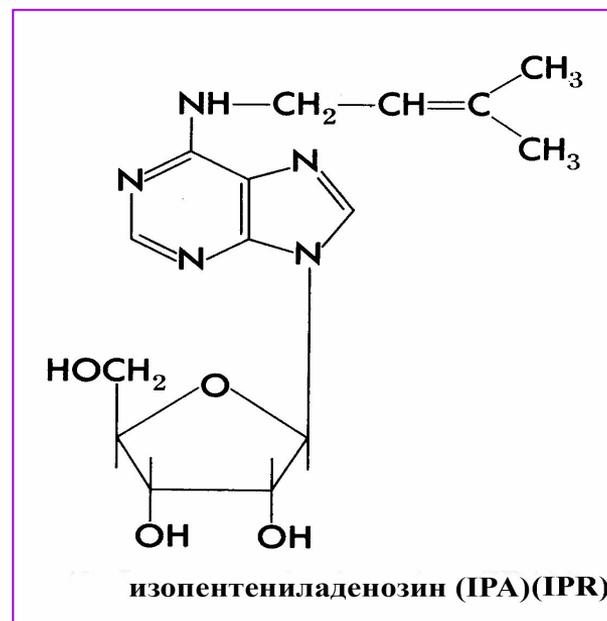
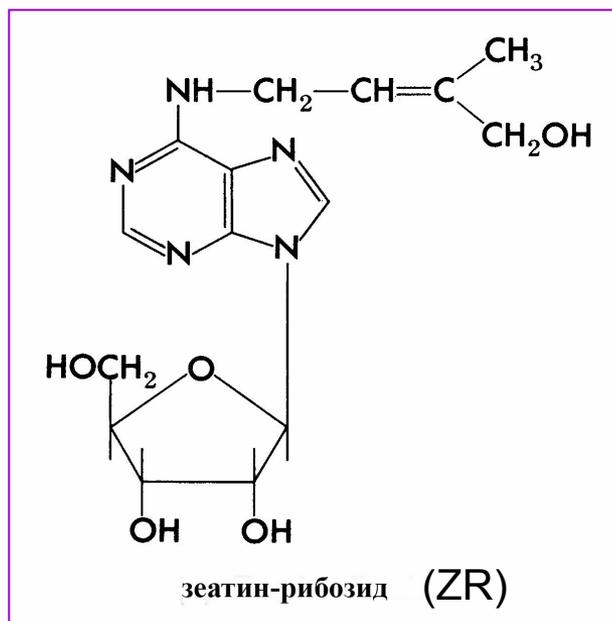
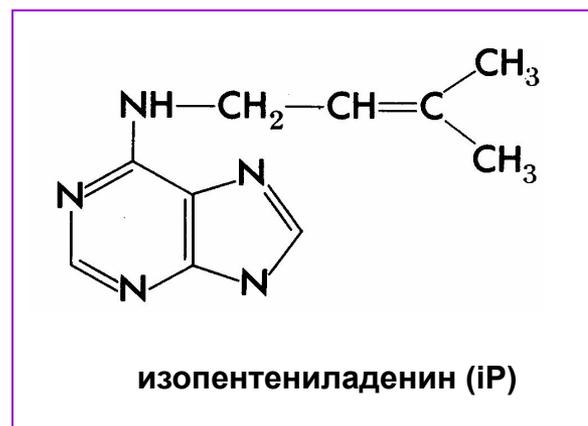
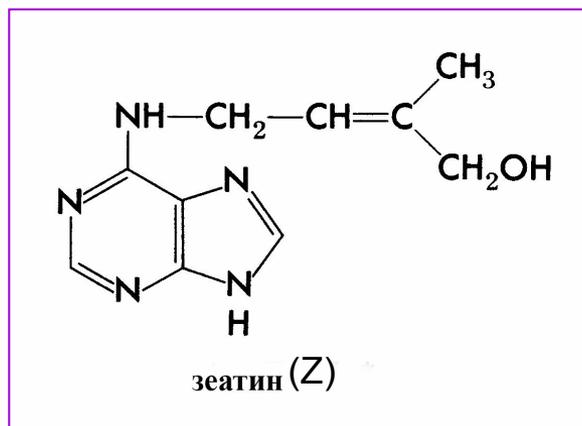
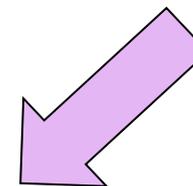
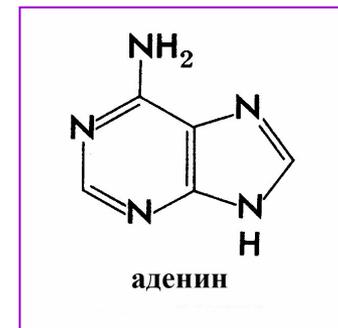


защитные
реакции,
ингибирование
вегетативного
развития



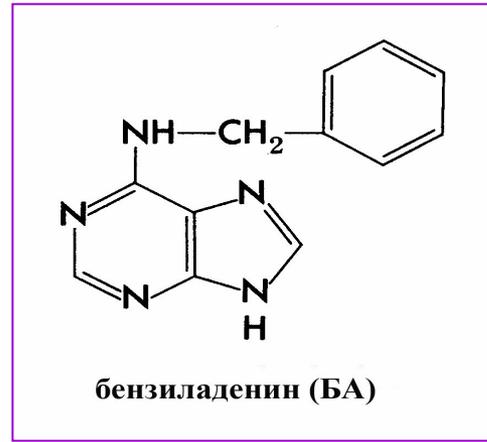
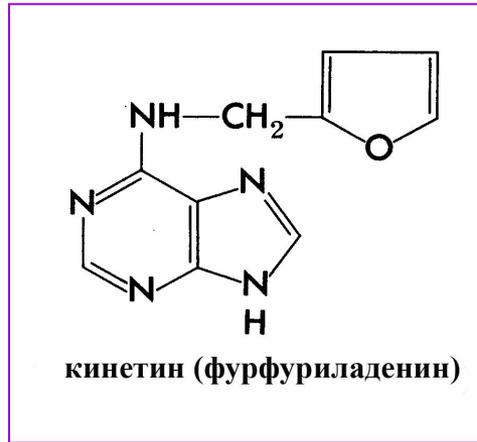
ЦИТОКИНИНЫ

Натуральные цитокинины – производные аденина

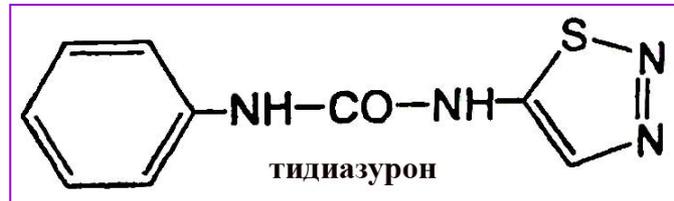


Синтетические цитокинины

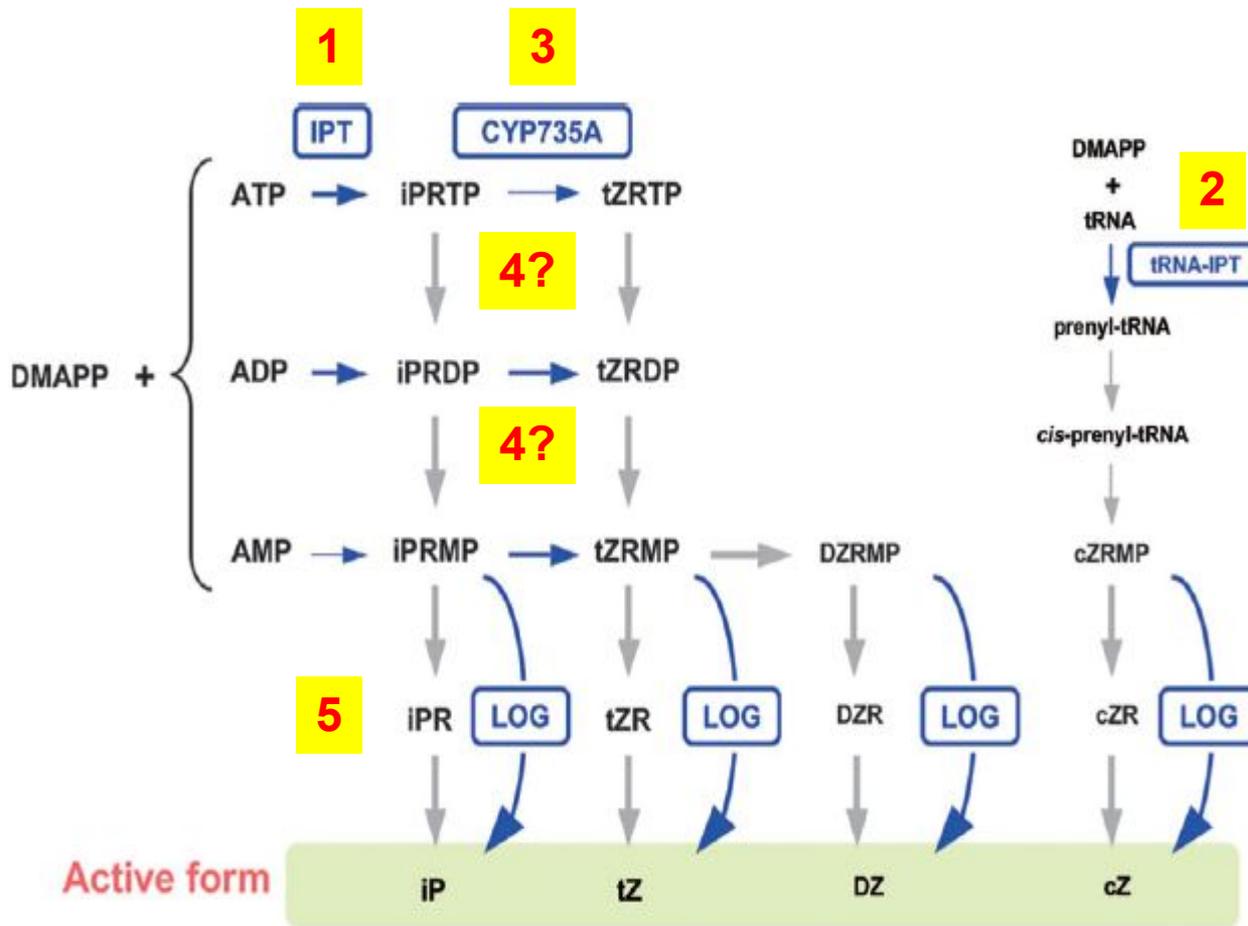
1. Производные аденина



2. Производные фенилмочевины

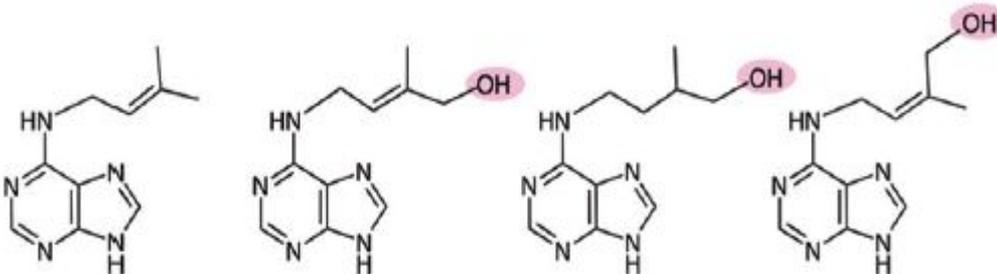


Биосинтез цитокининов



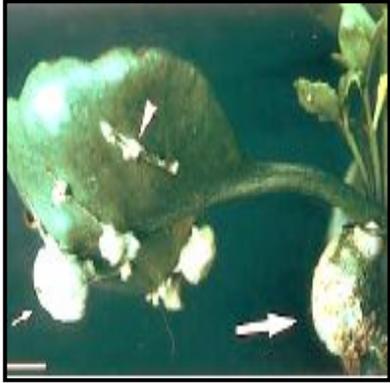
Основные ферменты:

- 1. изопентенил-трансферазы (IPT)** – синтез IP-нуклеотидов
- 2. тРНК-изопентенилтрансферазы (tRNA-IPT)** – синтез пренил-тРНК из тРНК
- 3. цитохром Р450-монооксигеназы (CYP735A)** – синтез Z-нуклеотидов из IP-нуклеотидов
- 4. нуклеотидазы** – синтез IP- и Z-рибозид-монофосфатов из трифосфатов
- 5. нуклеозид-монофосфат-гидролазы (LOG)** – синтез активных цитокининов из цитокинин-нуклеотидов

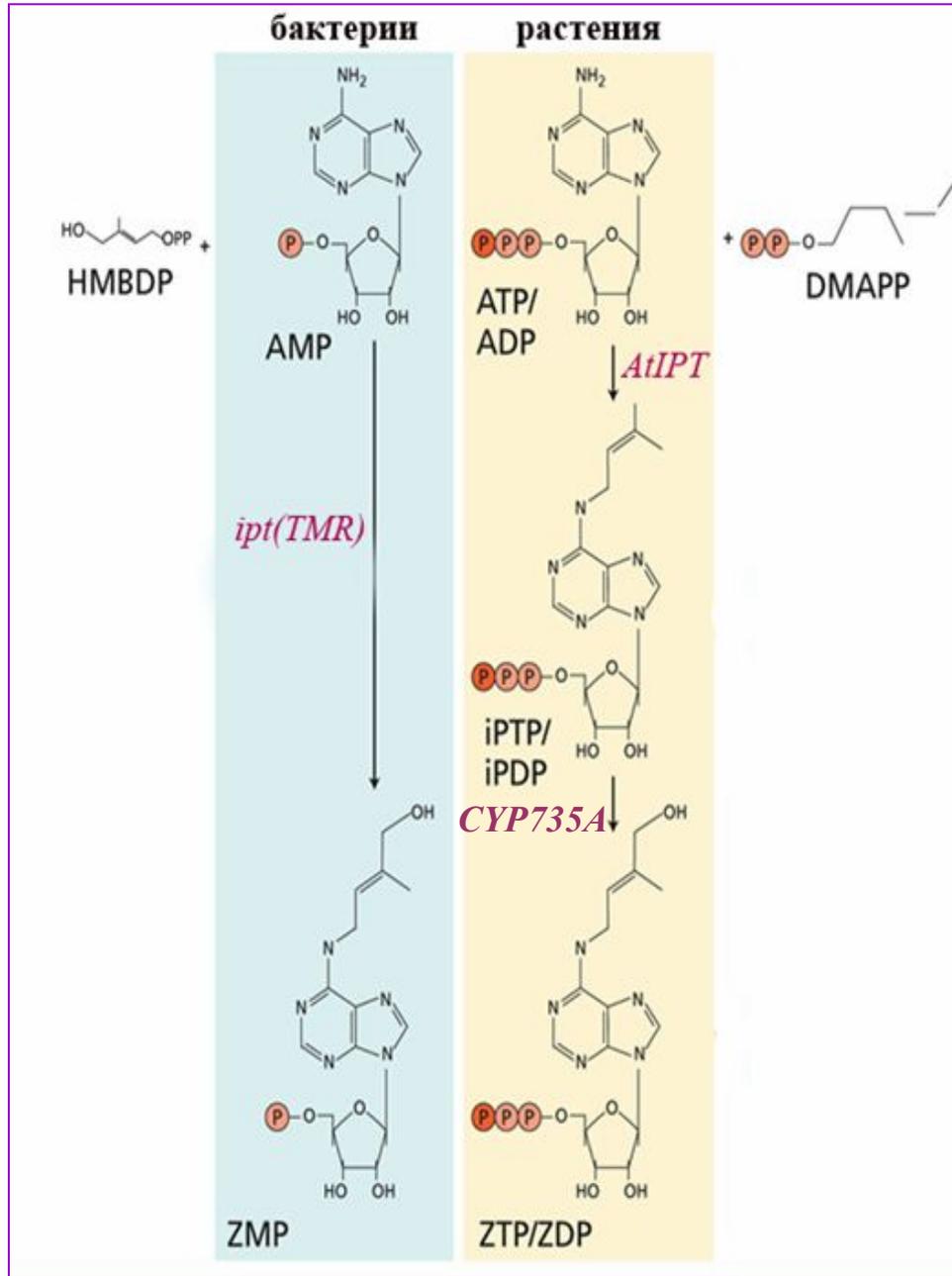


Первый этап синтеза цитокининов у бактерий и растений

IPT/TMR



Играет основную роль в развитии опухолей при поражении растений *A. tumefaciens*



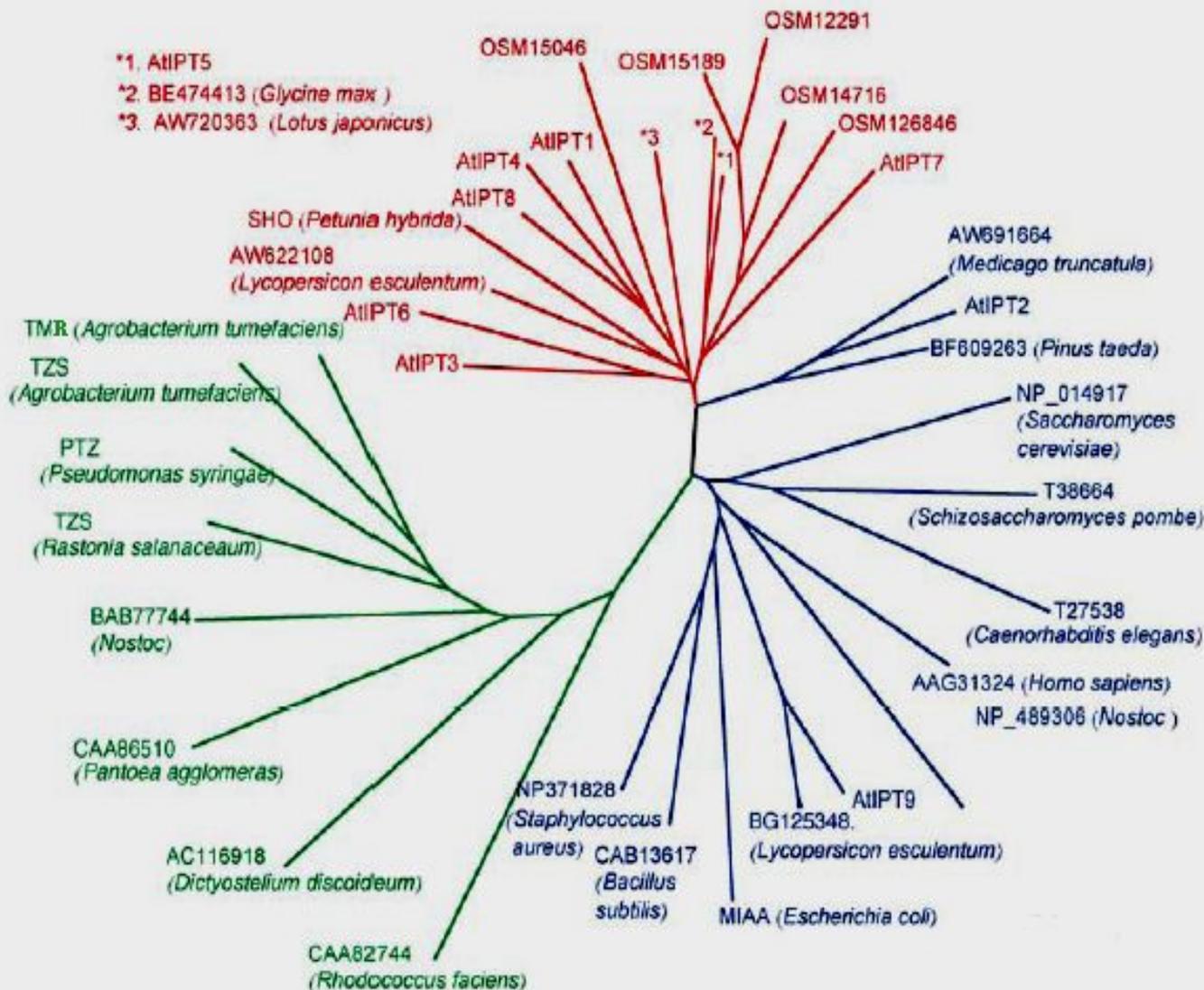
AtIPT



Экспрессия генов *IPT* растений регулируется:

- транскрипционным и факторами KNOX
- Нитратами, сульфатами и фосфатами

DMAPP::АТP/ADP изопентенилтрансферазы



DMAPP::AMP

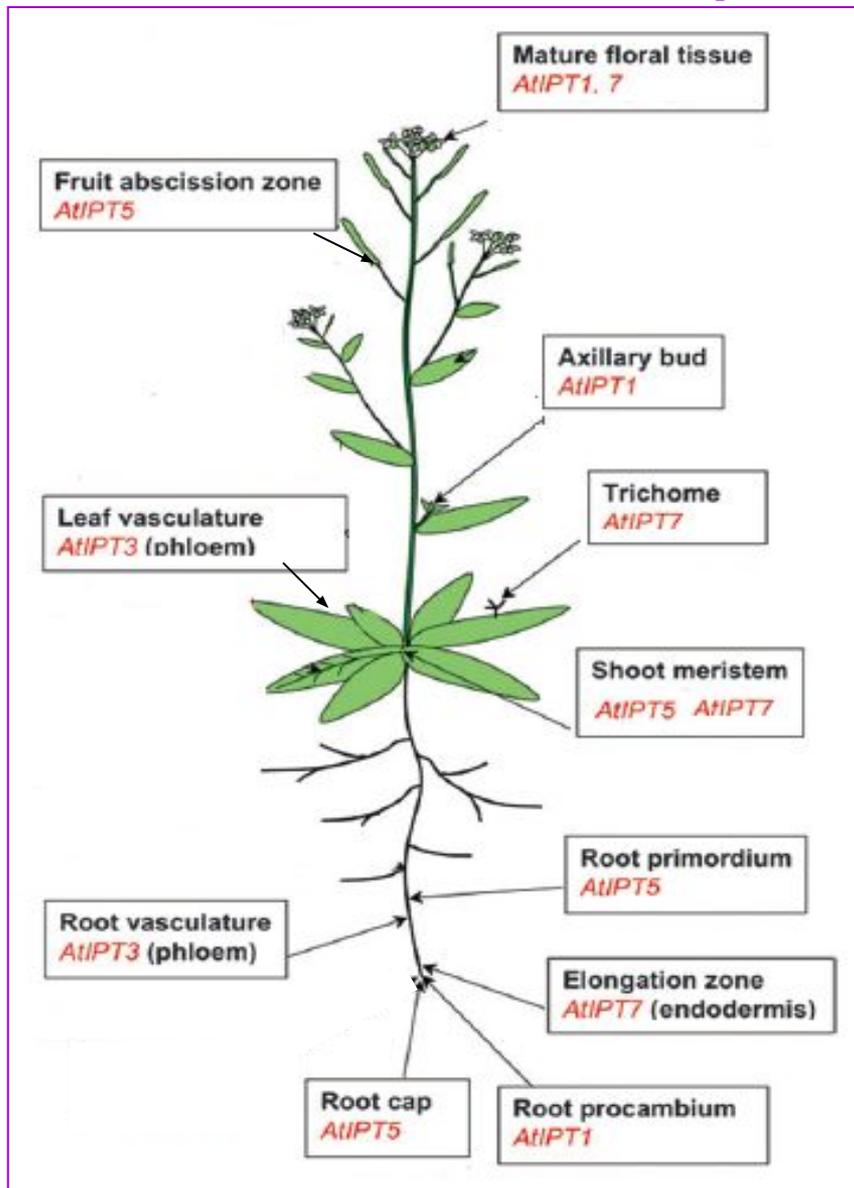
изопентенилтрансферазы

tPHK-изопентенилтрансферазы

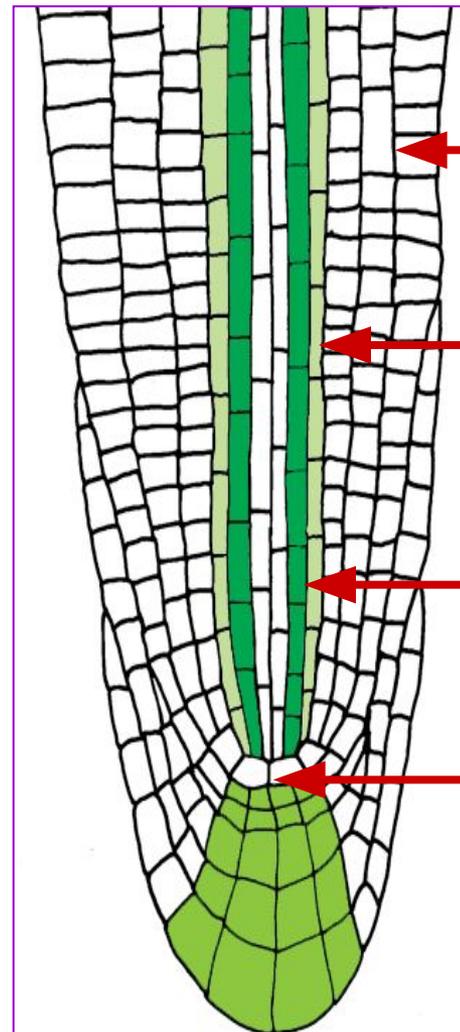
Филогенетическое древо изопентенилтрансфераз

- Гены **AtIPT1, 3-8** арабидопсиса и их гомологи у всех растений – семейство **DMAPP::ATP/ADP IPT**
- Гены **AtIPT2 и 9** и их гомологи у растений и животных – семейство **mPHK-IPT**
- Гены **IPT/TMR** *Agrobacterium tumefaciens* и их гомологи у бактерий – семейство **DMAPP::AMP IPT**

Тканеспецифичность экспрессии некоторых генов *AtIPT*:

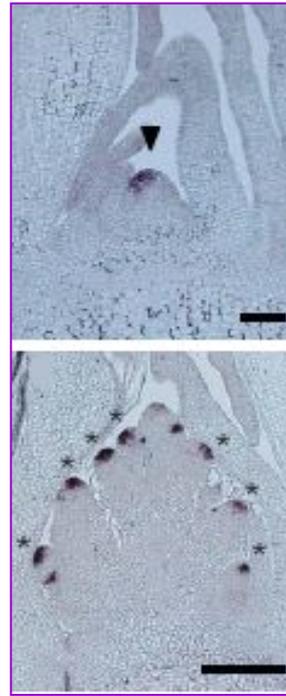
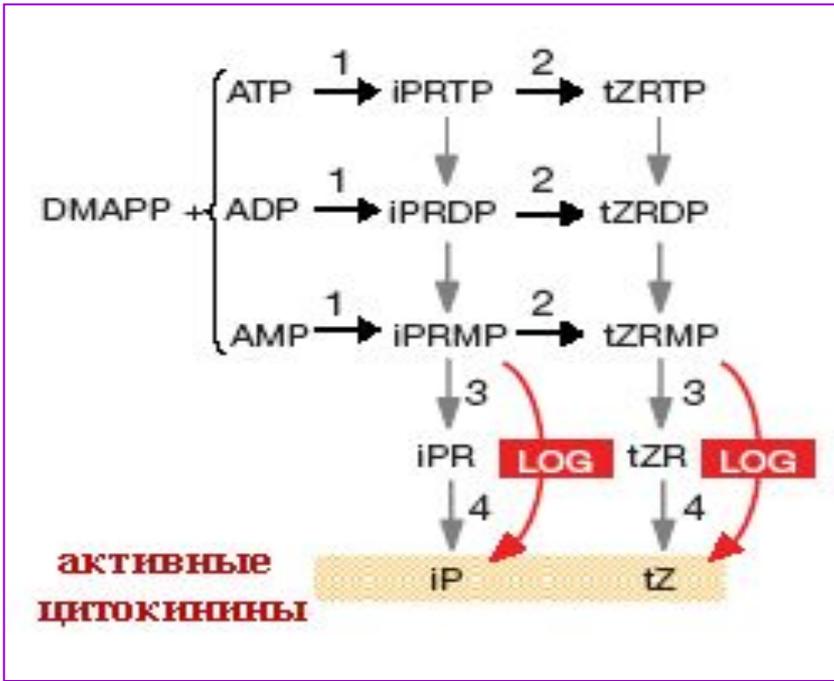


В корне

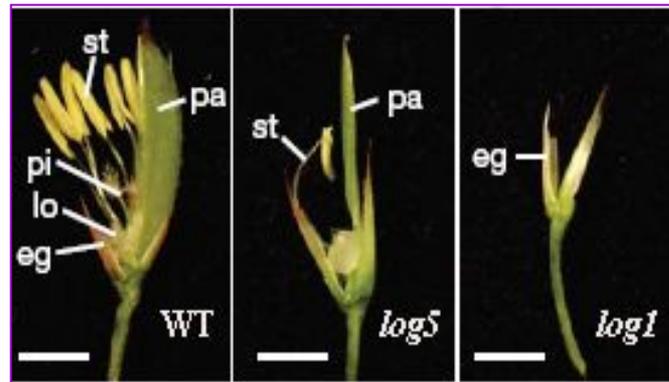


- AtIPT7* – эндодерма зоны элонгации корня
- AtIPT1* – предшественники ксилемы в прокамбии
- AtIPT3* – флоэма, молодые сосуды и перицикл.
- AtIPT5* – кончик корня и зачатки боковых корней

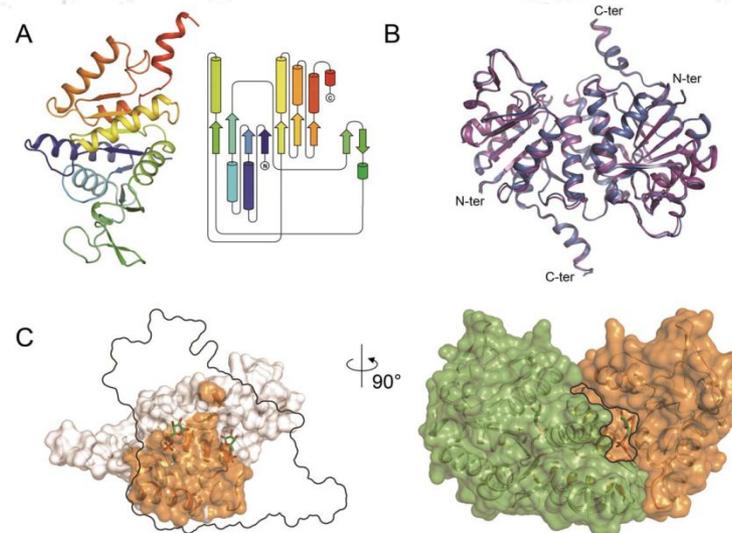
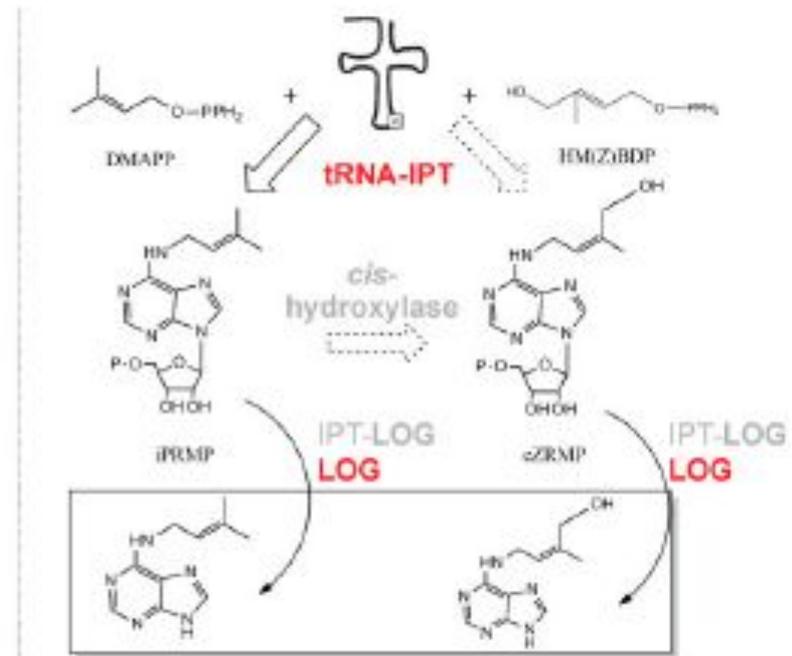
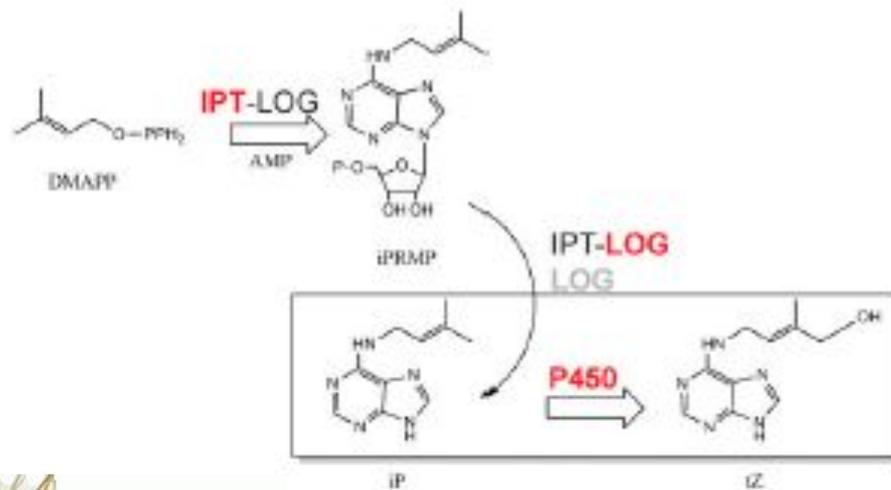
Цитокинин-активирующие ферменты LOG



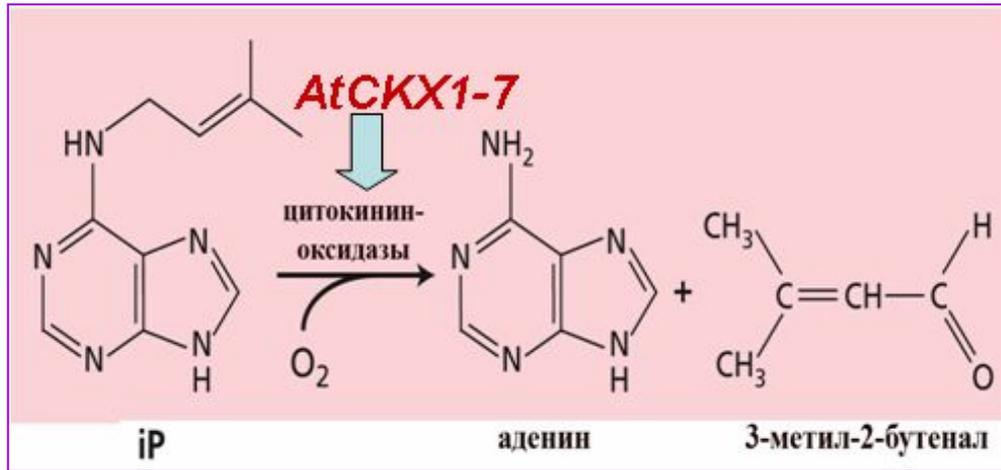
- LOG фосфорибогидролазы осуществляют синтез свободных изопентениладенина (IP) и зеатина (Z) из изопентенил- и зеатин-монофосфатов (IPRMP и ZRMP), промежуточные стадии – изопентенил-рибозид и зеатин-рибозид (IPR и ZR) – основные транспортные формы цитокининов



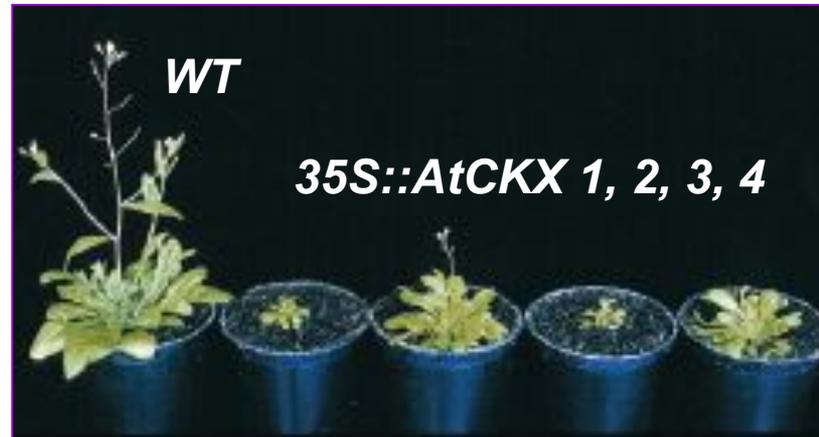
Гибридный ген *IPT-LOG* спорыньи



Катаболизм цитокининов

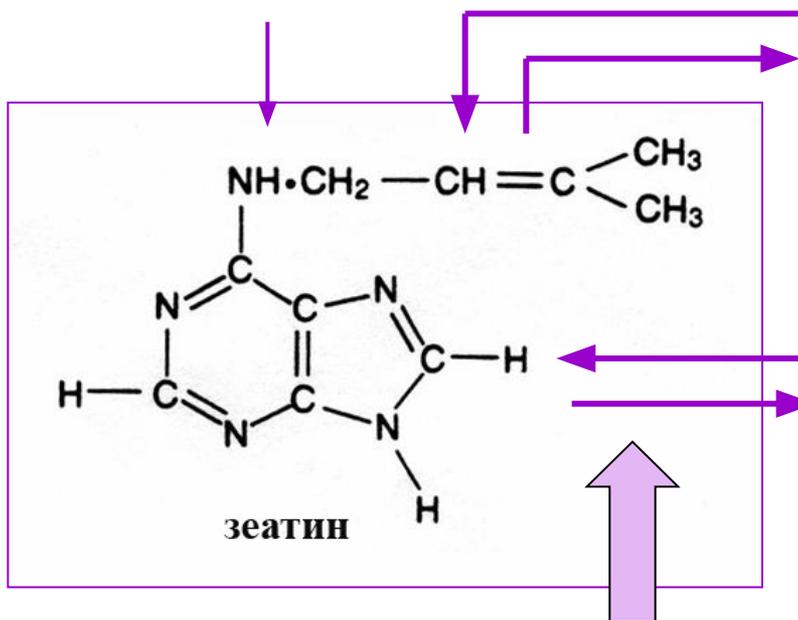


- Субстраты цитокинин-оксидаз – свободные цитокинины (зеатин, iP) и их рибозиды
 - Экспрессия генов *AtCKX* индуцируется цитокининами
- Белки *AtCKX* локализованы в вакуолях и ЭР
- Повышение экспрессии генов *AtCKX* вызывает снижение жизнеспособности, увеличение размеров меристемы корня и уменьшение апикальной меристемы побега



Конъюгаты цитокининов

Необратимое образование конъюгатов с аминокислотами, которые расщепляются цитокинин-оксидазами (катаболиты)

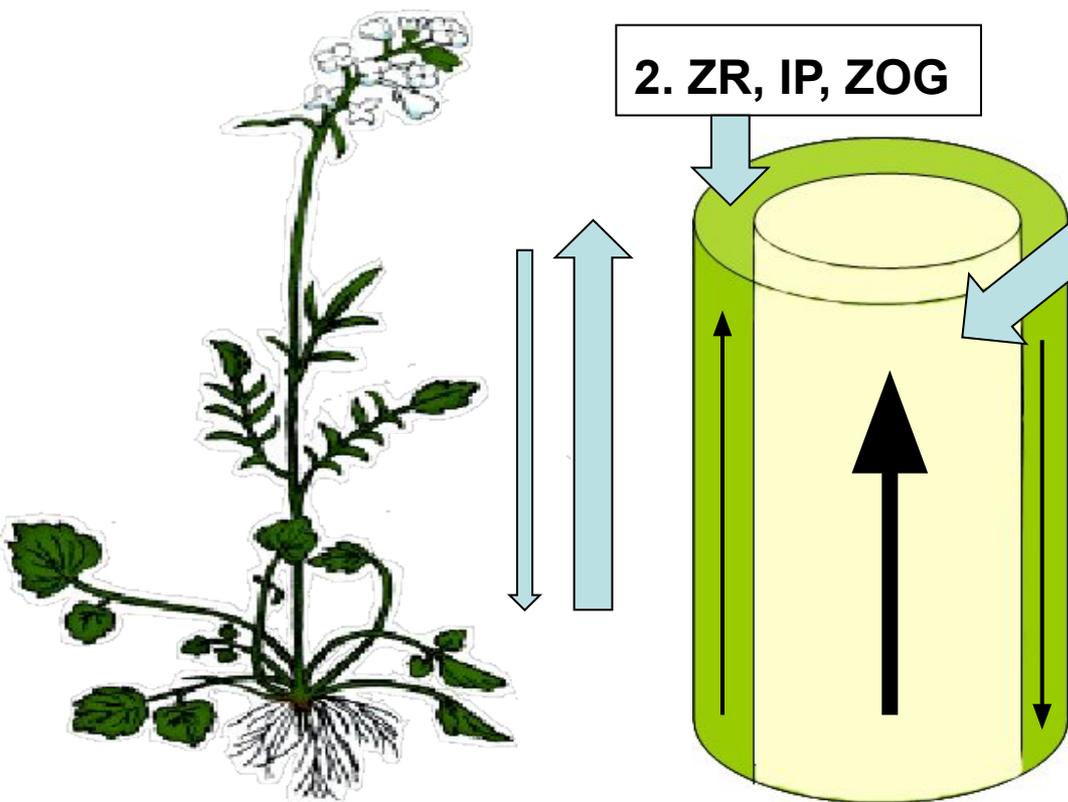


Обратимое O-гликозилирование по боковой цепи. O-гликозиды не расщепляются цитокинин-оксидазами (запасные формы)

Необратимое (?) N-гликозилирование по пуриновому кольцу (позиции 3,7 или 9). N-гликозиды расщепляются цитокинин-оксидазами (катаболиты)

rolC *Agrobacterium rhizogenes* (?)

Транспорт цитокининов



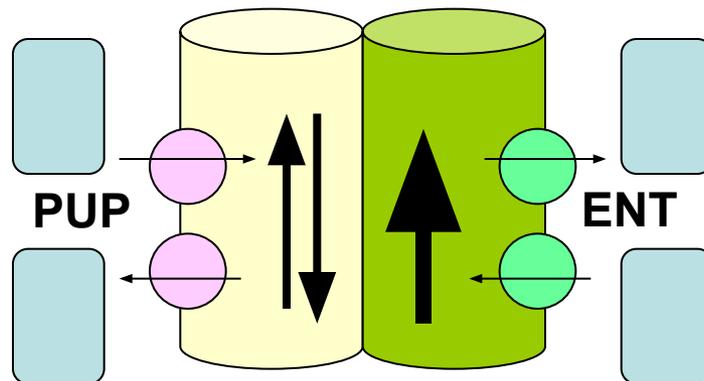
1. **ZR**,
ZMP, Z, iPMP, iPA, iP

Транспорт между органами растения:

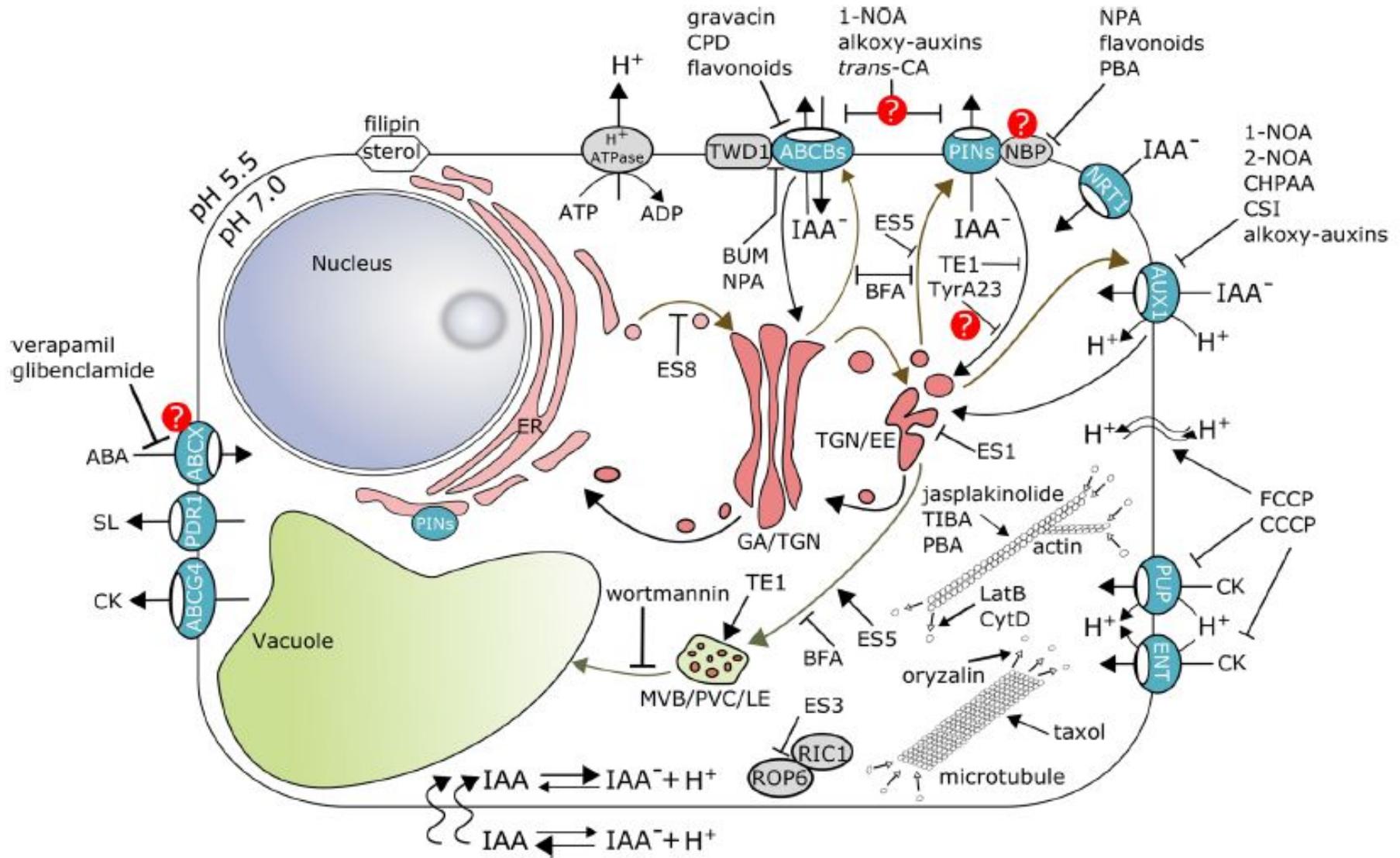
1. Ксилемный транспорт. Основная транспортная форма - **зеатин-рибозид**. От корня к стеблю.
2. Флоэмный транспорт. Свободные цитокинины и гликозиды. В обоих направлениях.

Транспорт между клетками:

1. Белки PUP □ свободные цитокинины (Z, IP)
2. Белки ENT □ цитокинин-нуклеозиды (ZR, IPR)



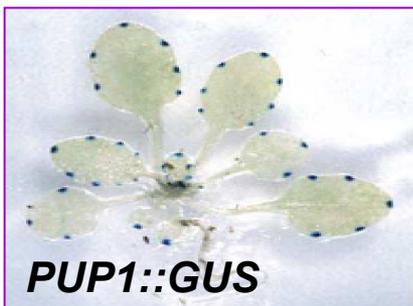
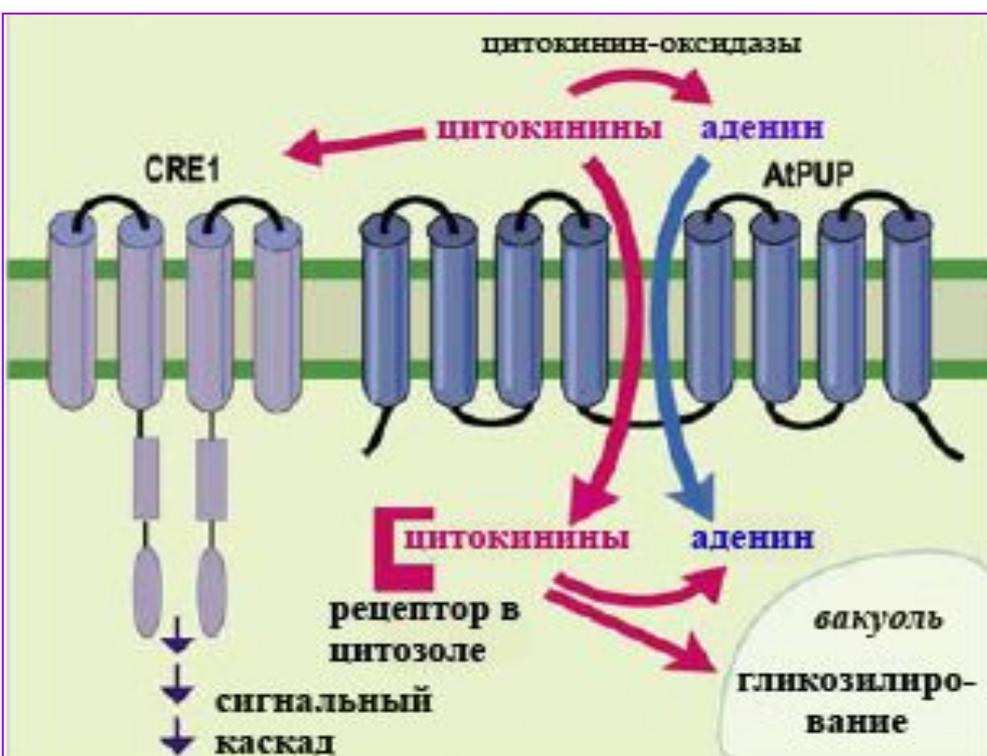
Транспортеры фитогормонов, их мишени и ингибиторы



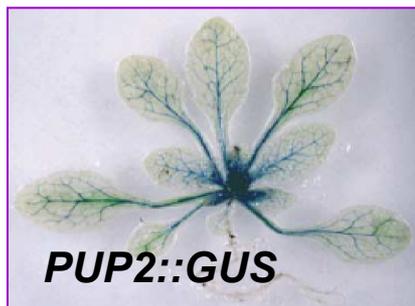
Межклеточные переносчики свободных цитокининов – белки PUP1 и PUP2

- Относятся к семейству пуринпермеаз – осуществляют также транспорт аденина

- Гены *AtPUP1* и *AtPUP2* различаются по пространственному характеру экспрессии □ разные функции

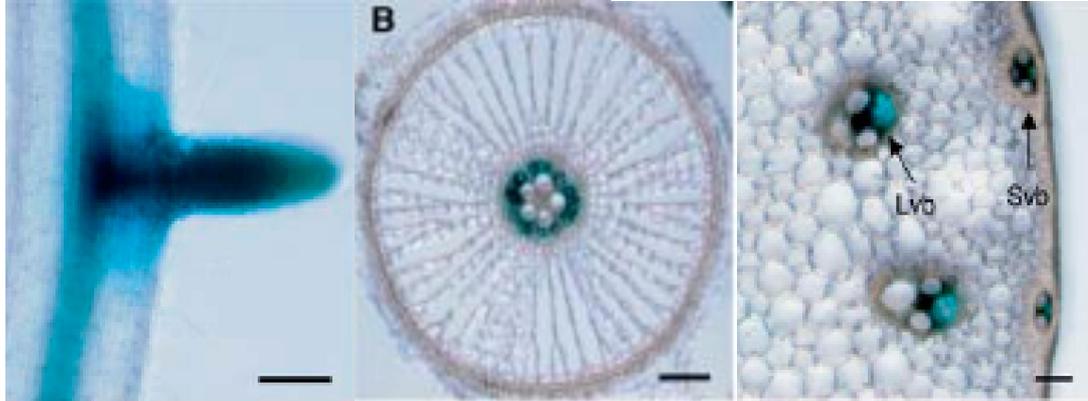
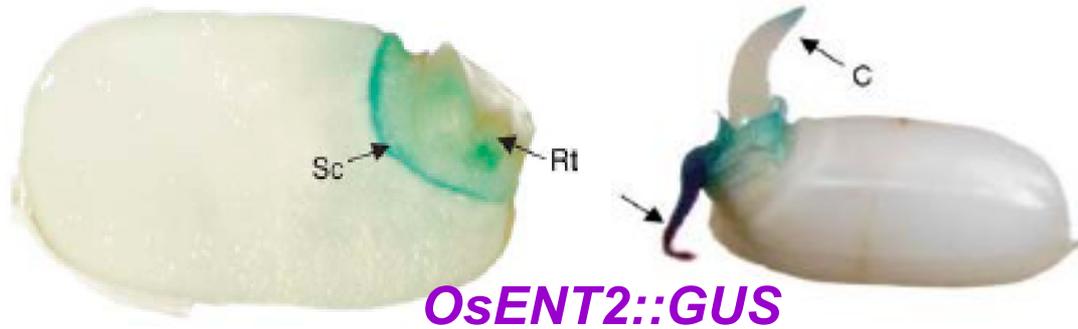


↓
предотвращение
потери
цитокининов
через гидатоды
при гуттации



↓
обмен цитокининами
между проводящей
системой и
окружающими
тканями

Межклеточные переносчики цитокинин-нуклеозидов (IP-R и Z-R)– белки ENT

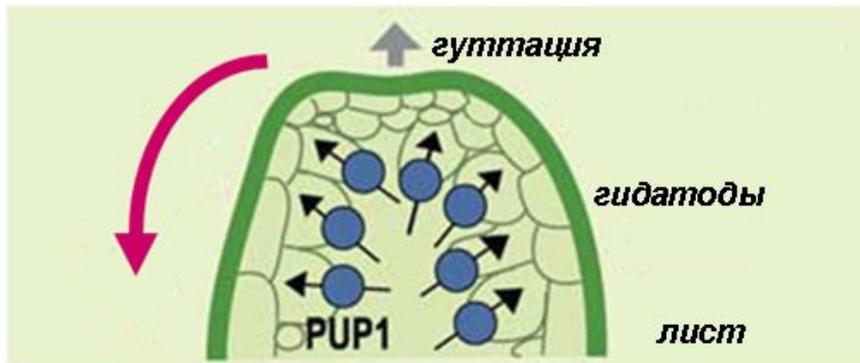


- ENT (Equilibrative Nucleoside Transporters) – транспорт ЦК-нуклеотидов

- Экспрессия генов *AtENT* арабидопсиса и *OsENT* риса наблюдается в сосудистых пучках стебля и корня, эндосперме прорастающих семян

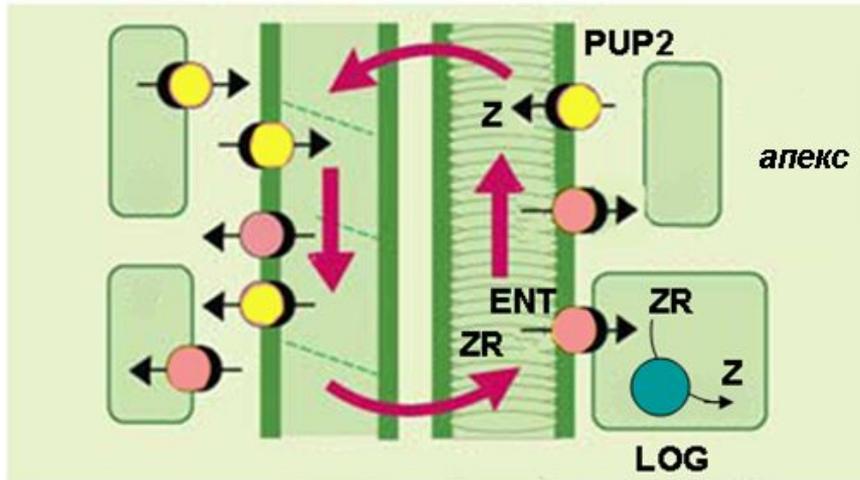
IPT

LOG



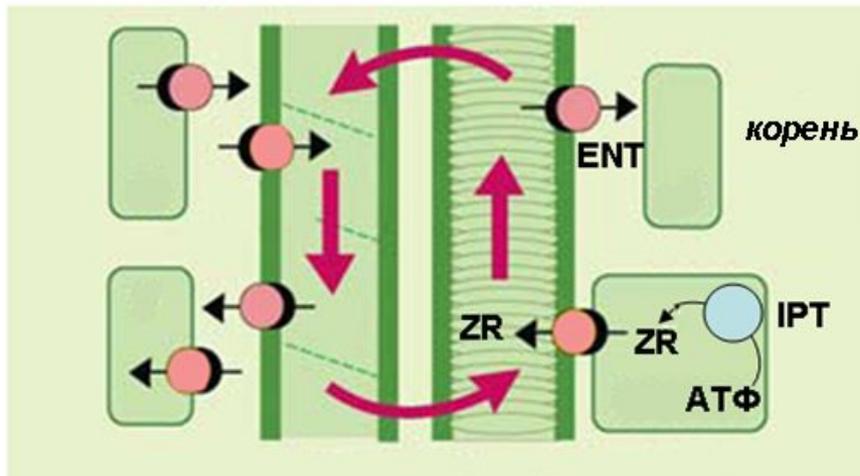
ЛИСТ:

1. PUP1 транспортируют ЦК из гидатод в окружающие ткани



ПАМ:

1. ENT транспортируют ЦК-нуклеотиды из сосудов
2. LOG активируют ЦК
3. PUP2 транспортируют свободные ЦК в сосуды и флоэму



Корень:

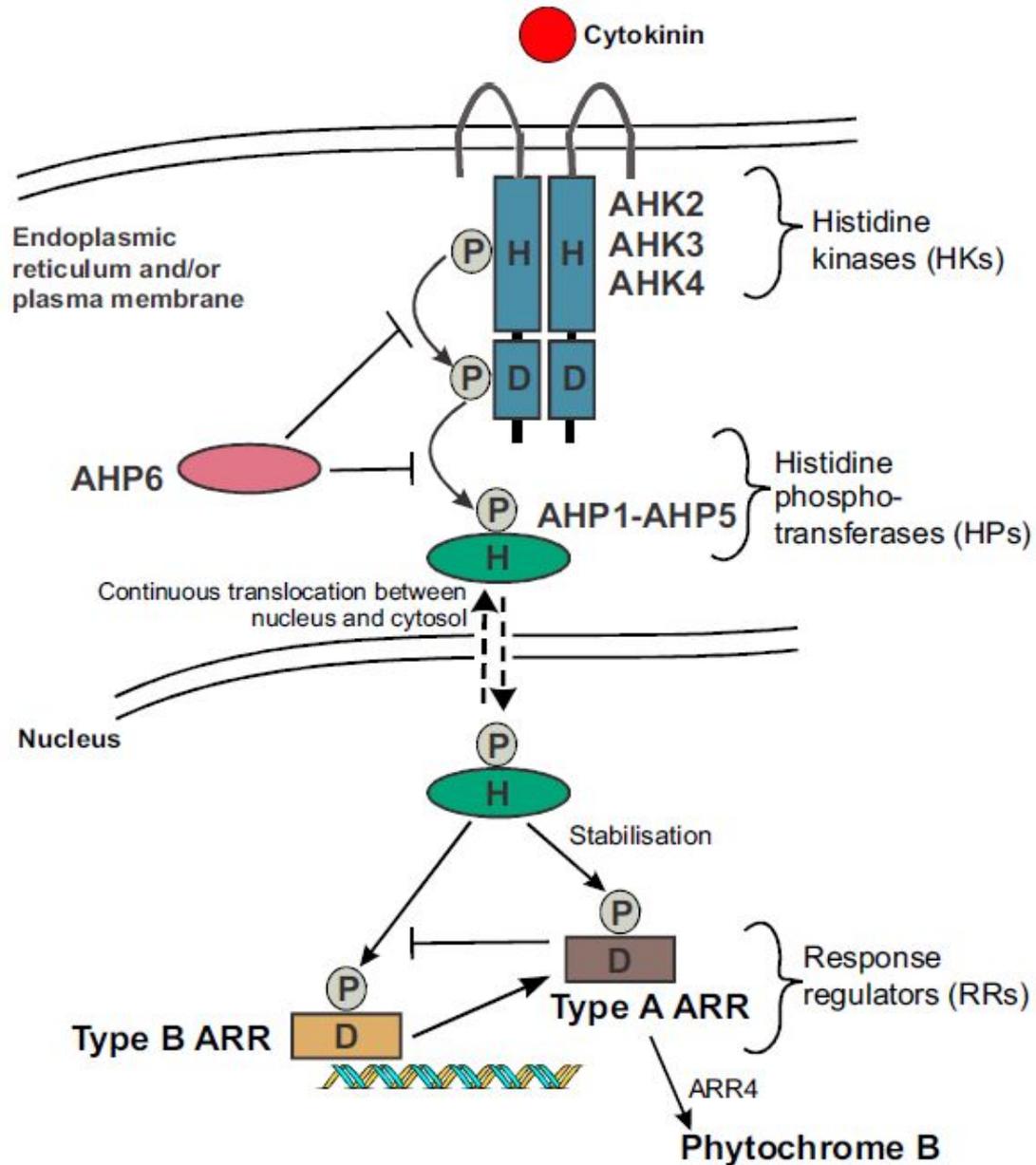
1. IPT синтезируют ЦК-нуклеотиды
2. ENT транспортируют их в сосуды

ENT

PUP2

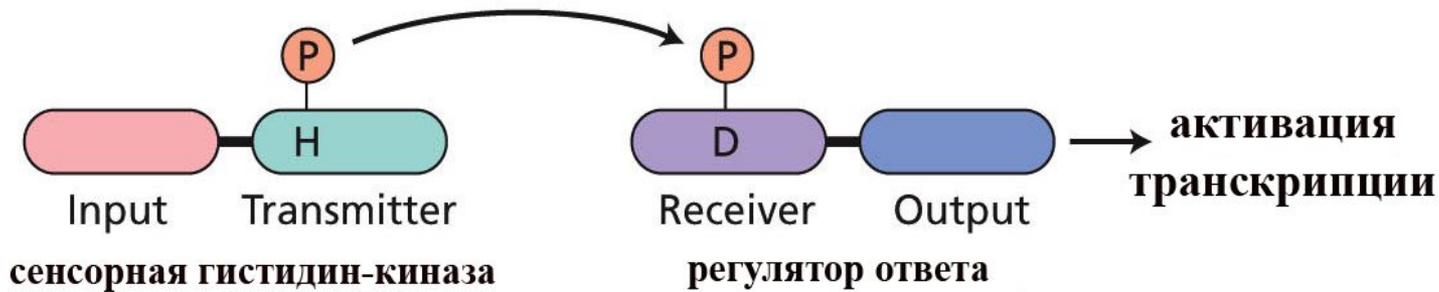
PUP1

Передача сигнала при ответе на цитокинины

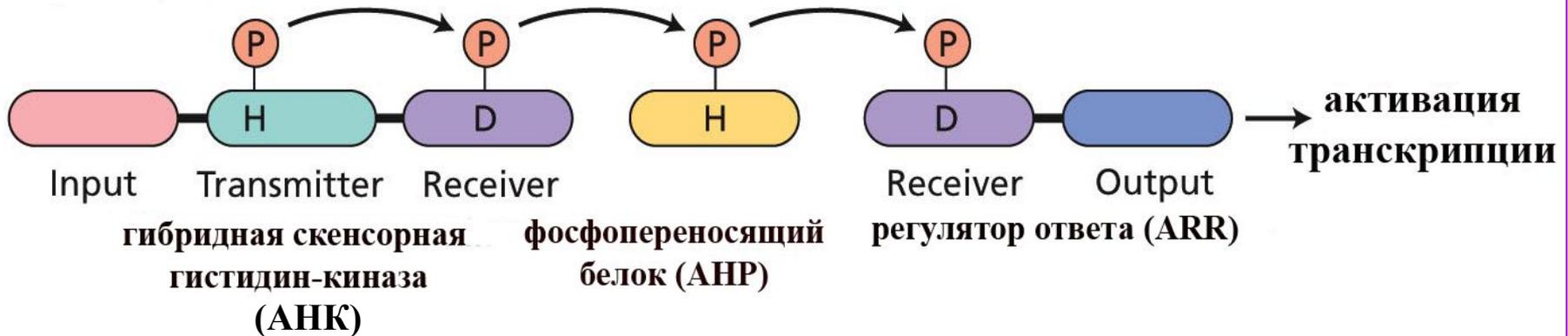


Организация двухкомпонентных сигнальных систем

Простая двухкомпонентная сигнальная система (бактерии)



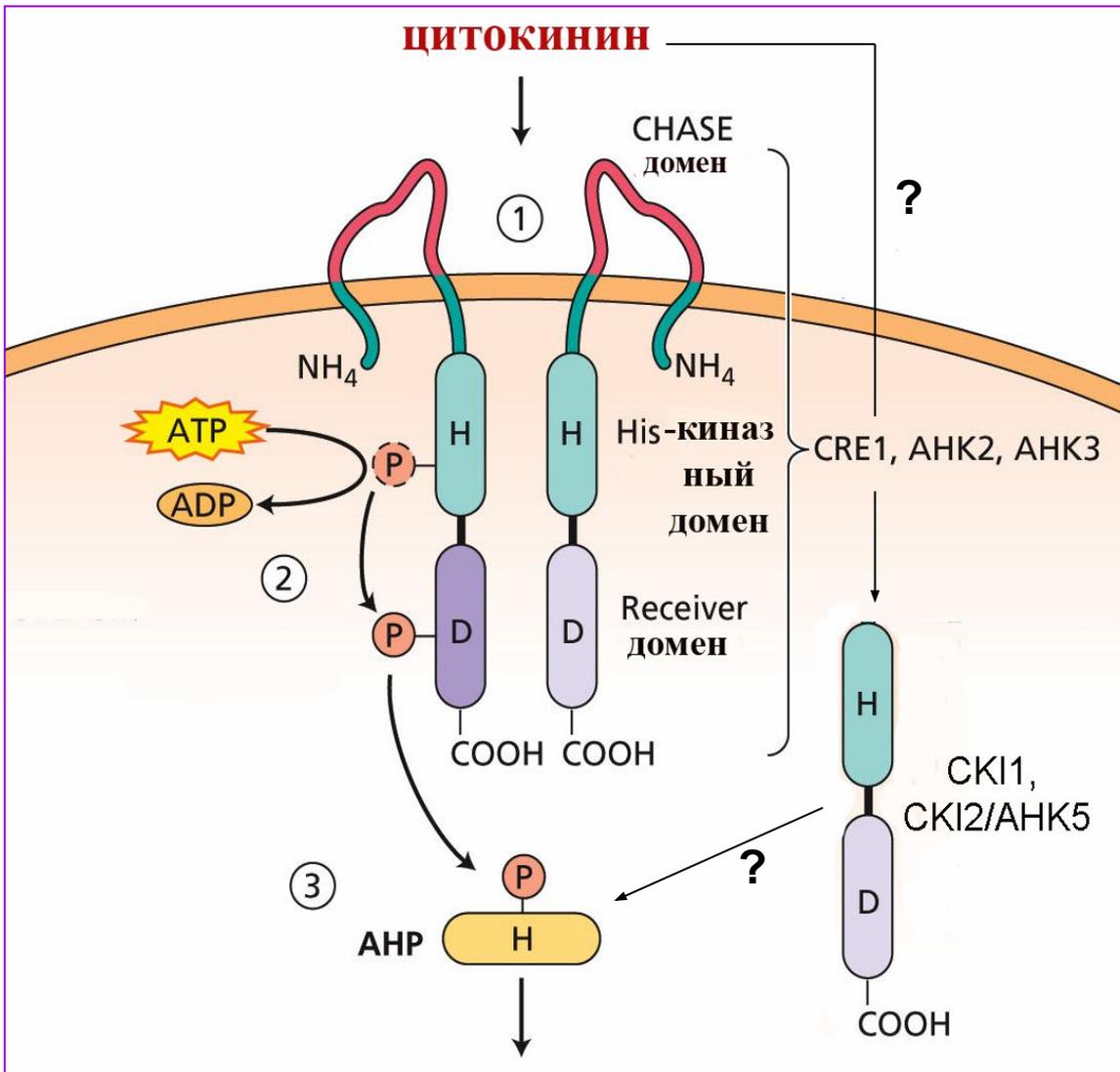
Двухкомпонентная сигнальная система, организованная по принципу фосфореле (растения)



Рецепторы цитокининов – АНК

(*Arabidopsis* hybrid-type Histidine sensor Kinases)

у арабидопсиса: **CRE1/WOL/АНК4, АНК3, АНК2**



Домены:

1. CHASE (Cyclase Hystidin-Kinase Associated Extracellular) – лиганд-связывающий

2. Киназный

3. Воспринимающий

Димеризуются при связывании лиганда

SKI1, SKI2/АНК5 – без CHASE домена

Фенотипы мутантов по генам цитокининовых рецепторов

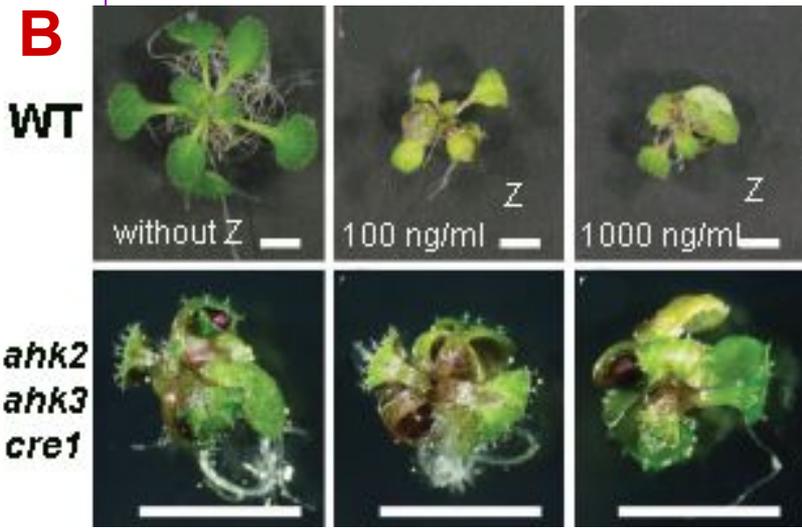
дикий тип двойные мутанты тройные мутанты



A Columbia WS *ahk2 cre1* *ahk3 cre1* *ahk2 ahk3* *ahk2 ahk3 cre1*

A – фенотип взрослых растений – резкое снижение жизнеспособности у двойных и тройных мутантов

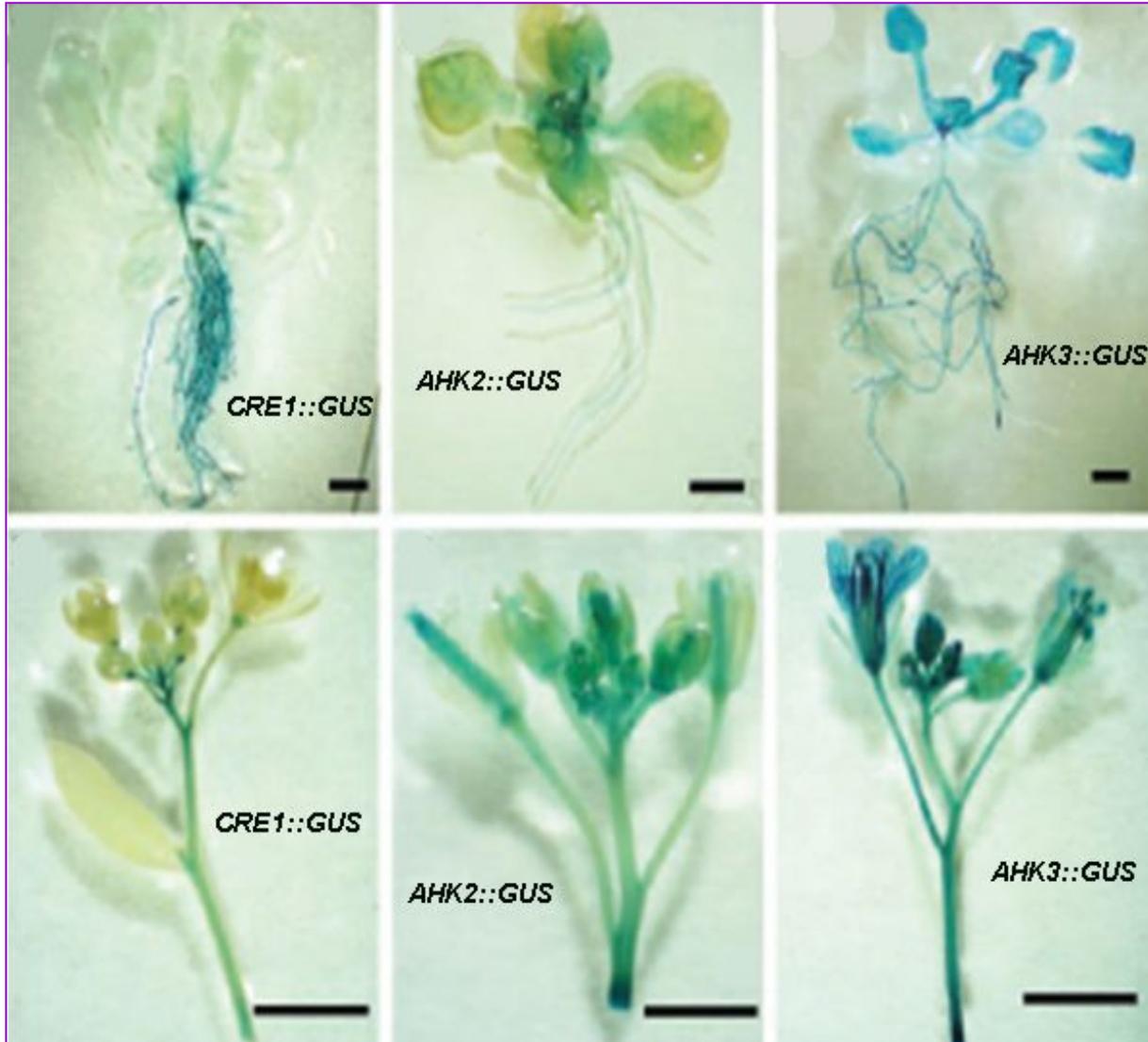
B – нечувствительность к высоким концентрациям цитокининов у тройных мутантов



B WT
ahk2 ahk3 cre1

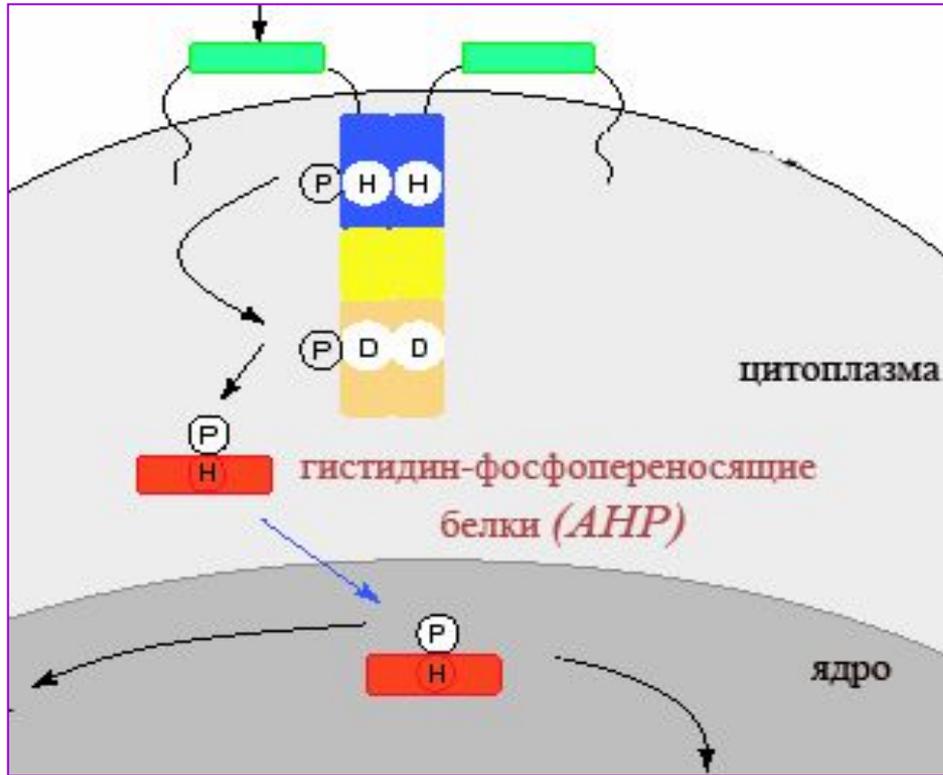
without Z Z Z
100 ng/ml 1000 ng/ml

Тканеспецифичность экспрессии генов ЦИТОКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ



- **CRE1/АНК4** – в проводящей системе, апикальной меристеме побега, тканях корня (за исключением апикальной меристемы)
- **АНК2** – в апикальной меристеме побега, листьях, генеративных органах
- **АНК3** - во всех тканях и органах растения

Гистидин-фосфопереносящие белки (АНР)

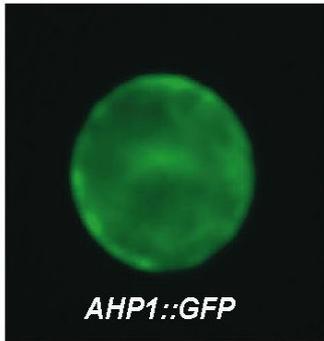


1. Выполняют функцию челноков между цитоплазмой и ядром
2. Транспортируются в ядро после восприятия цитокинина рецепторами
3. Передают фосфатную группу от рецепторных гистидин-киназ на регуляторы ответа
4. У арабидопсиса выявлено 6 генов **АНР (АНР1 – АНР6)**, которые экспрессируются во всех органах
5. Мутанты ***ahp1ahp2aph3ahp4*** нечувствительны к цитокининам

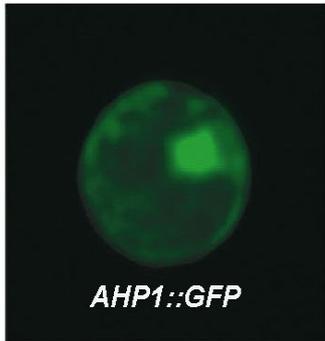
без зеатина

+зеатин 0.5 ч

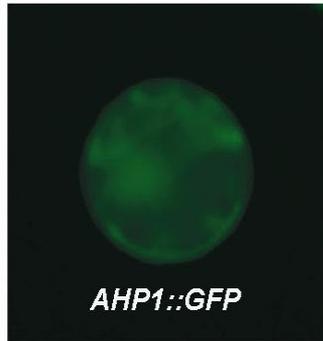
+зеатин 1.5 ч.



AHP1::GFP

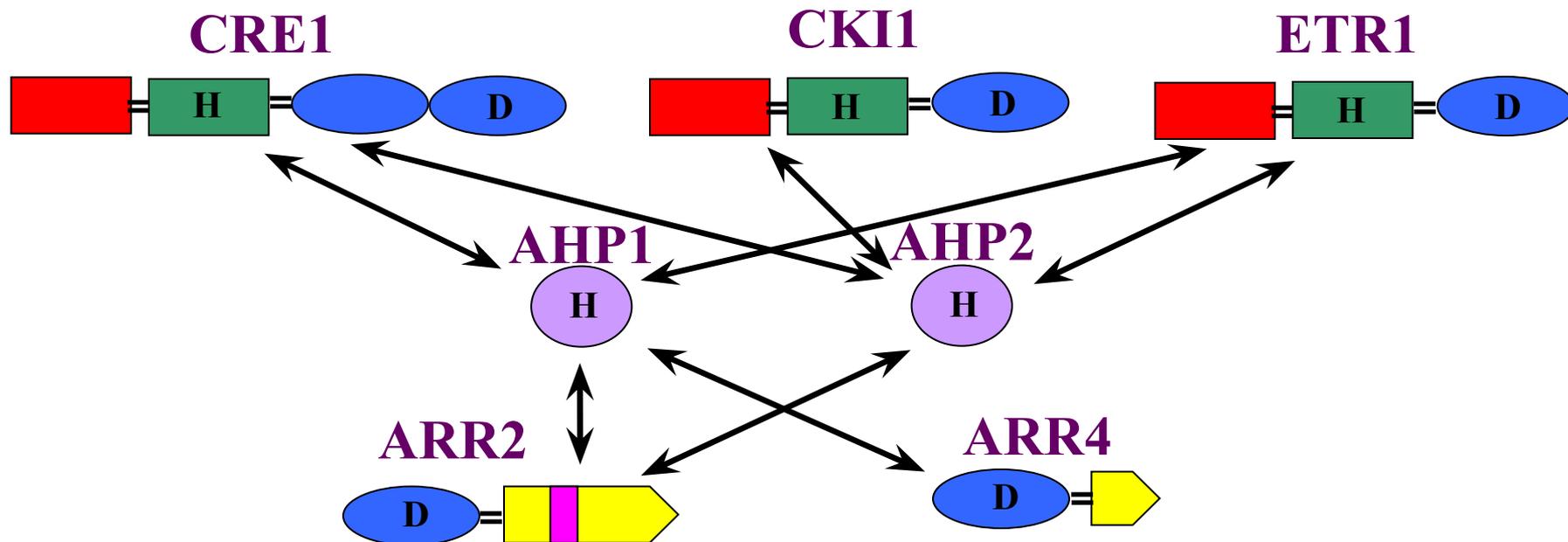


AHP1::GFP

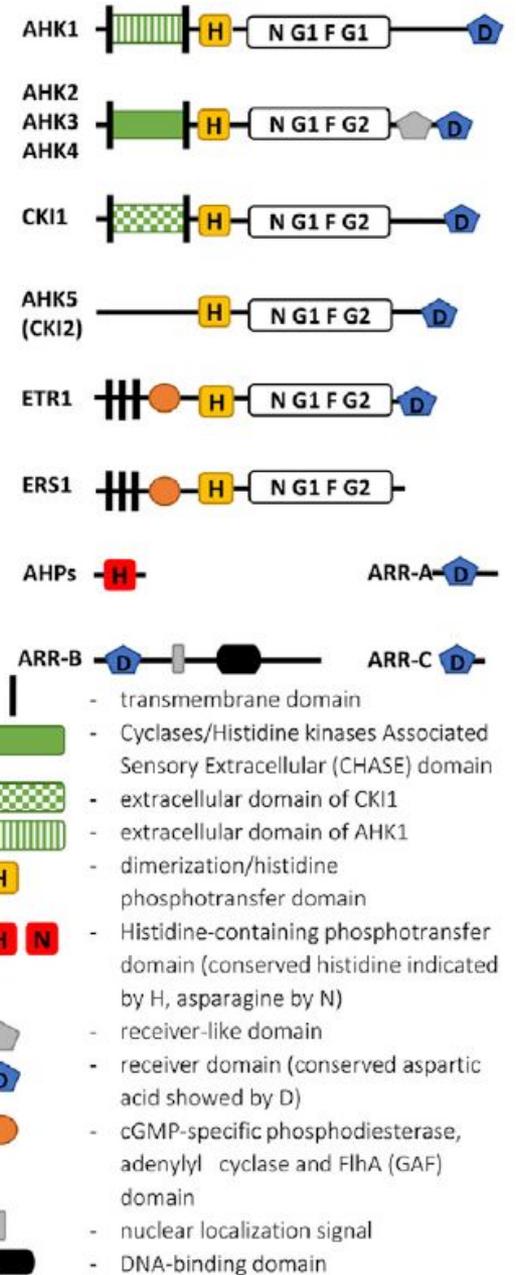
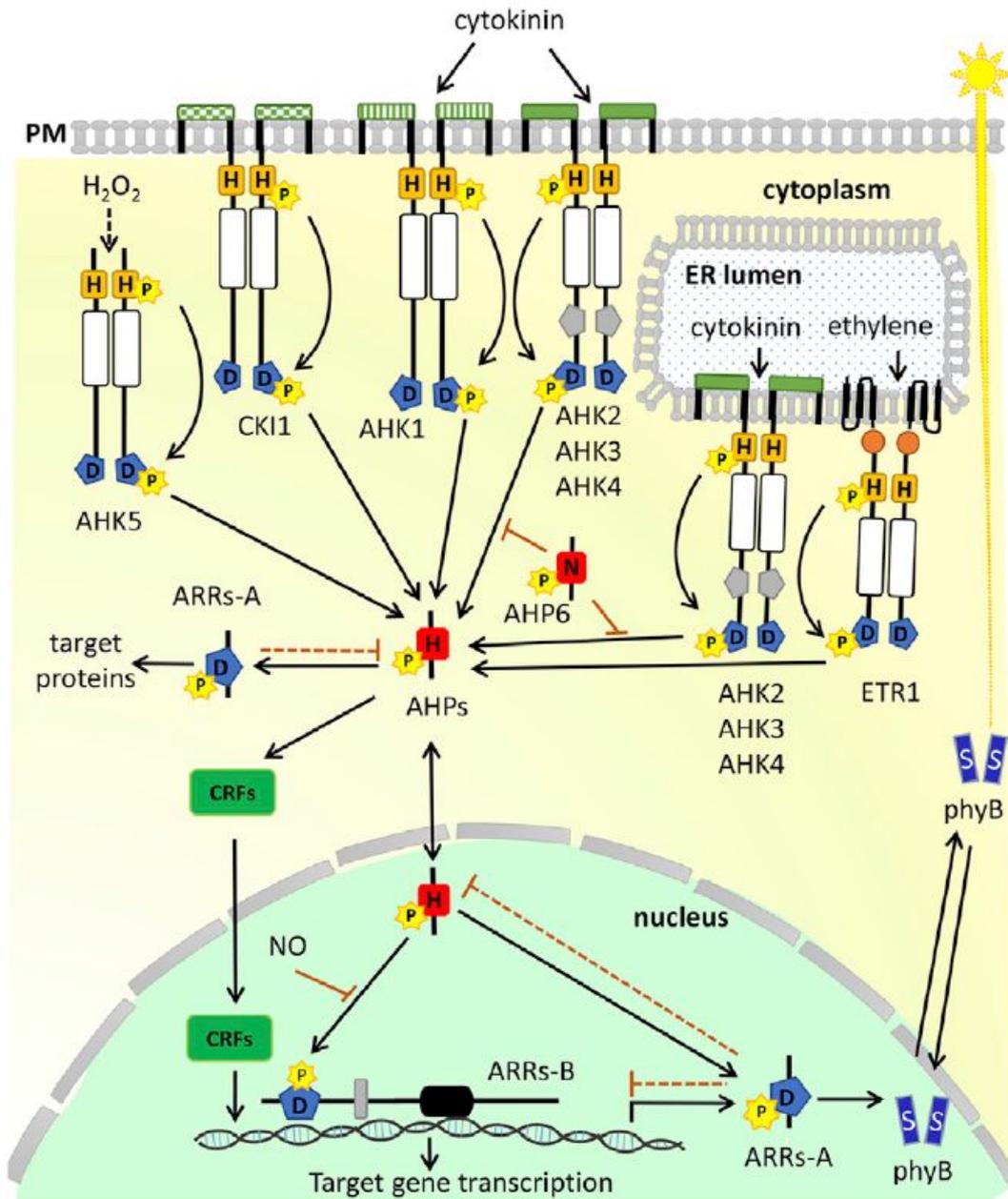


AHP1::GFP

Взаимодействие сигнальных путей цитокининов и этилена через АНР белки



Передача сигнала при ответе на цитокинины



Регуляторы ответа на цитокинин (ARR)

ARR А-типа

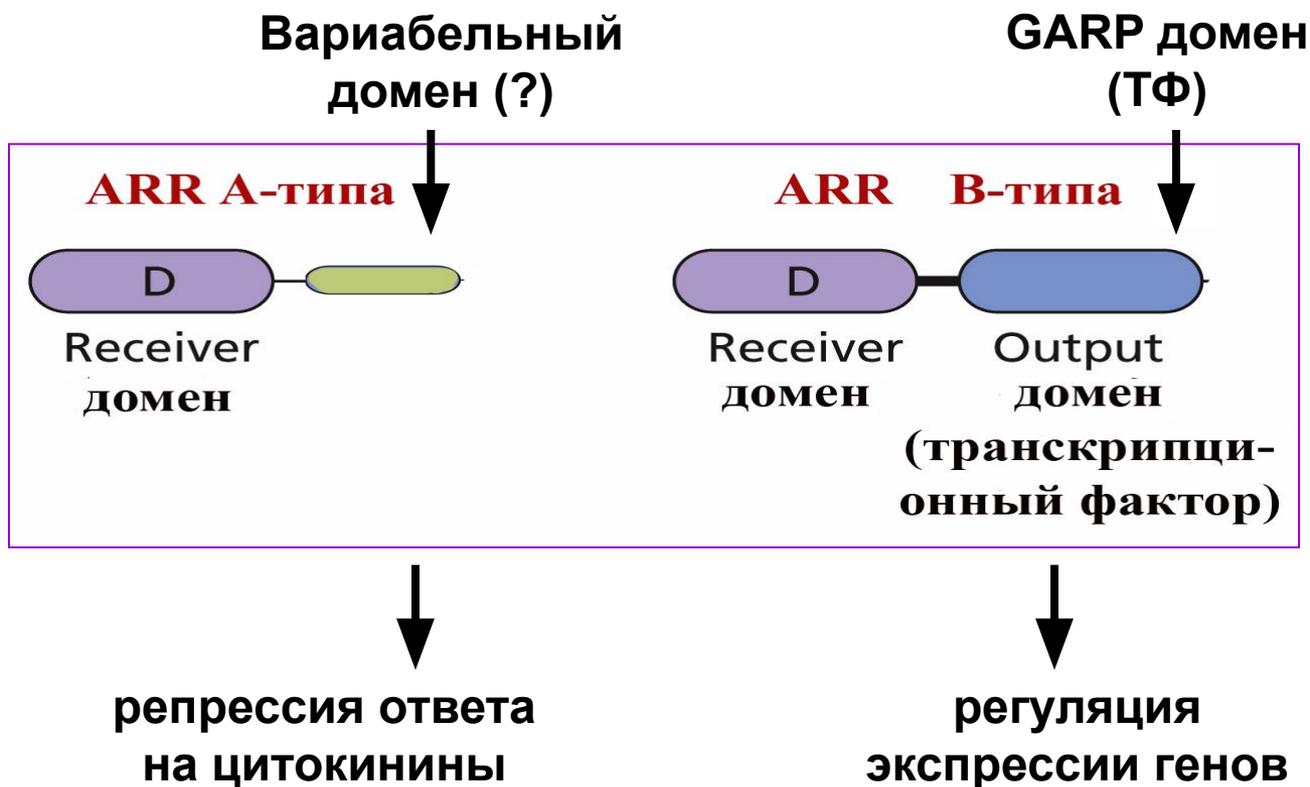
ARR 1, 2, 10, 11, 12, 13, 14

функция неизвестна

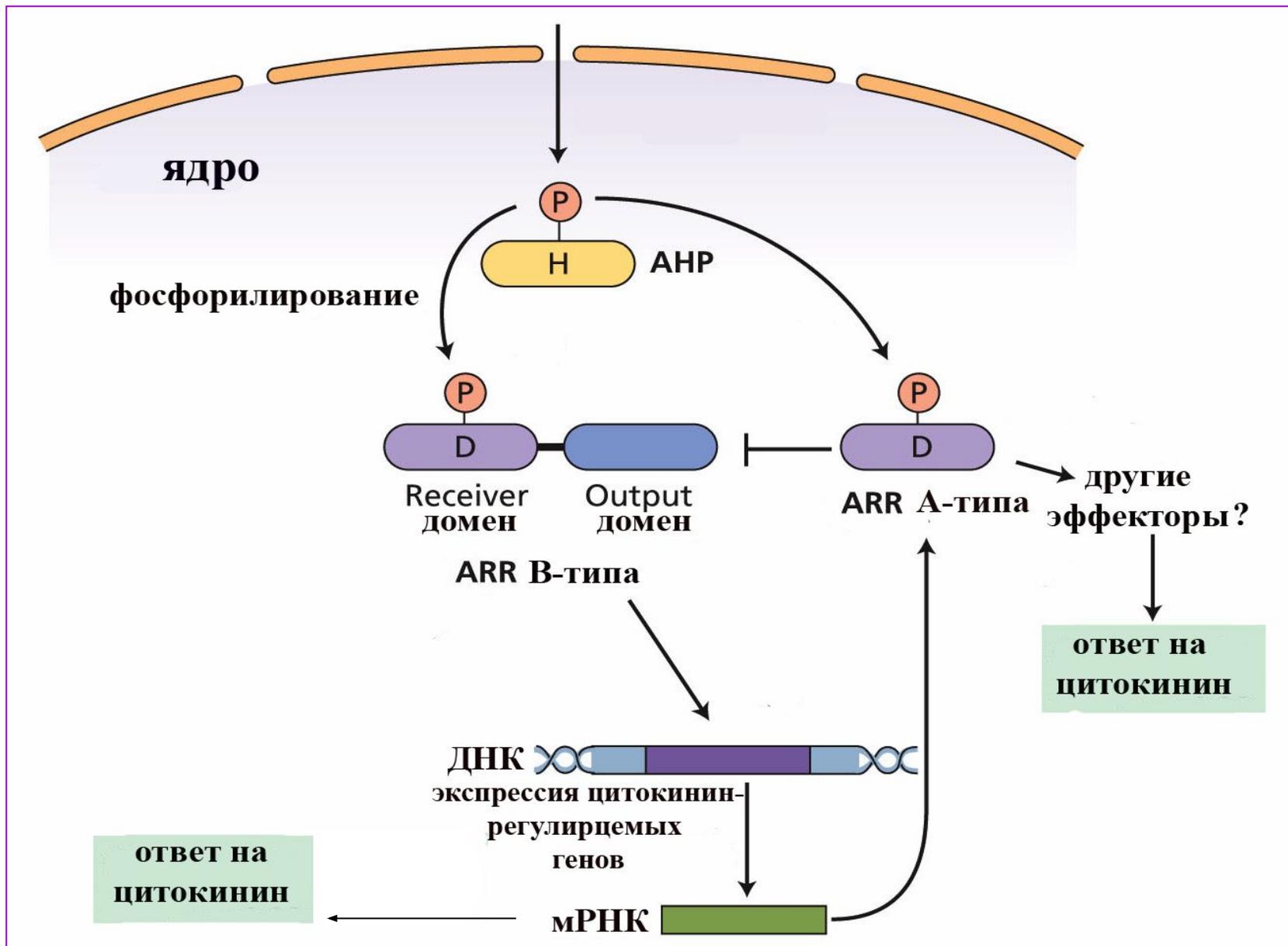
ARR В-типа

ARR 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 15

транскрипционные факторы



Функции белков ARR-B и ARR-A



Индукция экспрессии генов ARR А-типа в ответ на цитокинин

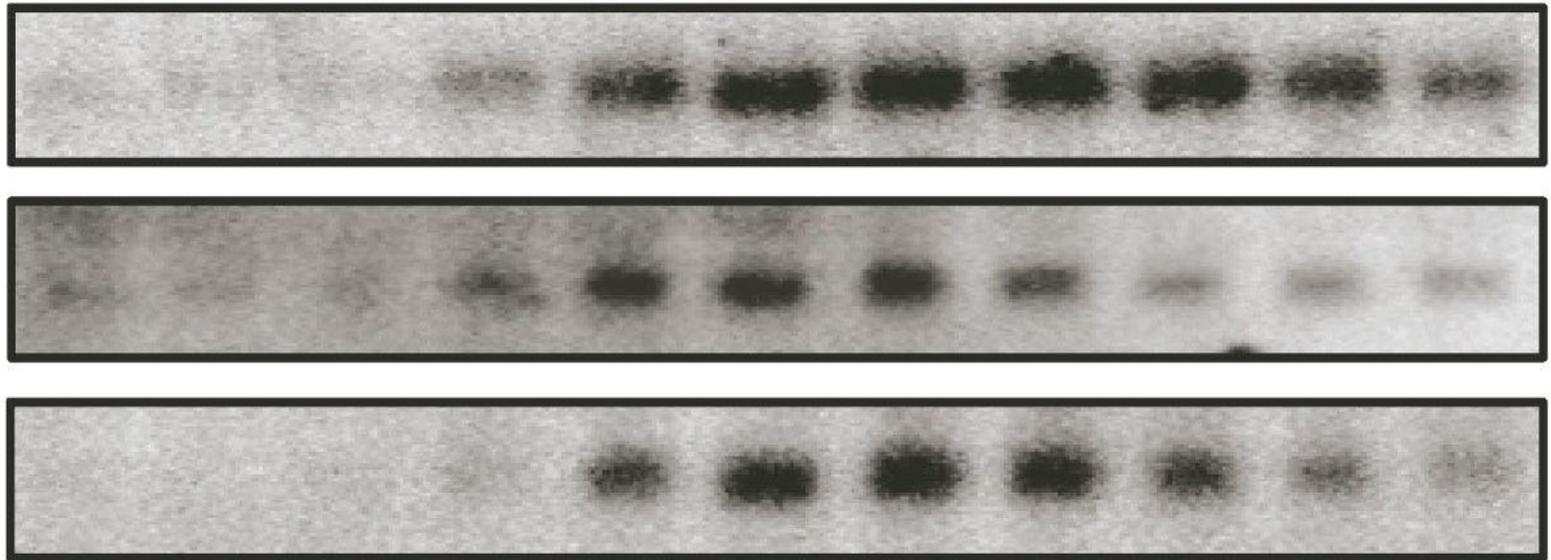
Время обработки цитокининами

0 2 5 10 15 25 30 40 60 120 180

ARR5

ARR6

ARR7



Тканеспецифичность экспрессии генов *ARR-B* и *ARR-A*



Цветок
Тычинки *ARR20*
Пестик *ARR1, ARR8*
Чашелистики *ARR13 ARR5*

Стебель
Апикальная меристема побега *ARR1, ARR2, ARR10, ARR11, ARR12, ARR18, ARR20, ARR26*
ARR5
Сосудистая система *ARR1, ARR2, ARR10, ARR12, ARR13, ARR20, ARR3, ARR4, ARR5, ARR6, ARR8, ARR9*

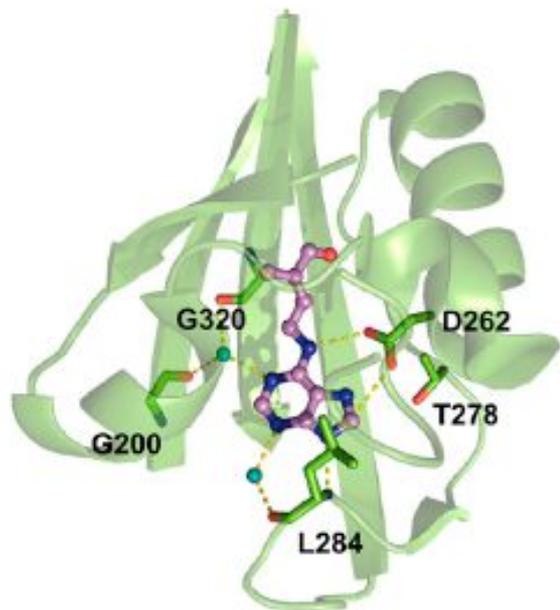
Семядоли/листья
Сосудистая система *ARR1, ARR2, ARR10, ARR12, ARR13, ARR20, ARR3, ARR4, ARR5, ARR6, ARR8, ARR9*
Устьица *ARR1, ARR2, ARR10, ARR12, ARR13, ARR20*

Корень
Сосудистая система *ARR3, ARR4, ARR5, ARR6, ARR8, ARR9*

Боковые корни *ARR2, ARR10, ARR12, ARR3, ARR4, ARR5, ARR6, ARR8, ARR9*

Апикальная меристема корня *ARR1, ARR2, ARR10, ARR12, ARR5, ARR8, ARR9, ARR15*

Figure 3. Dimerization/Histidine Phosphotransfer Domain of ERS1.



(B) Cytokinin-binding pocket of AHK4. *Trans*-zeatin is represented by violet sticks. Active-site residues are shown as sticks in atomic representation (N, blue; O, red; C, green). Water molecules are shown by cyan spheres. Hydrogen bonds are shown as yellow dashes.

A

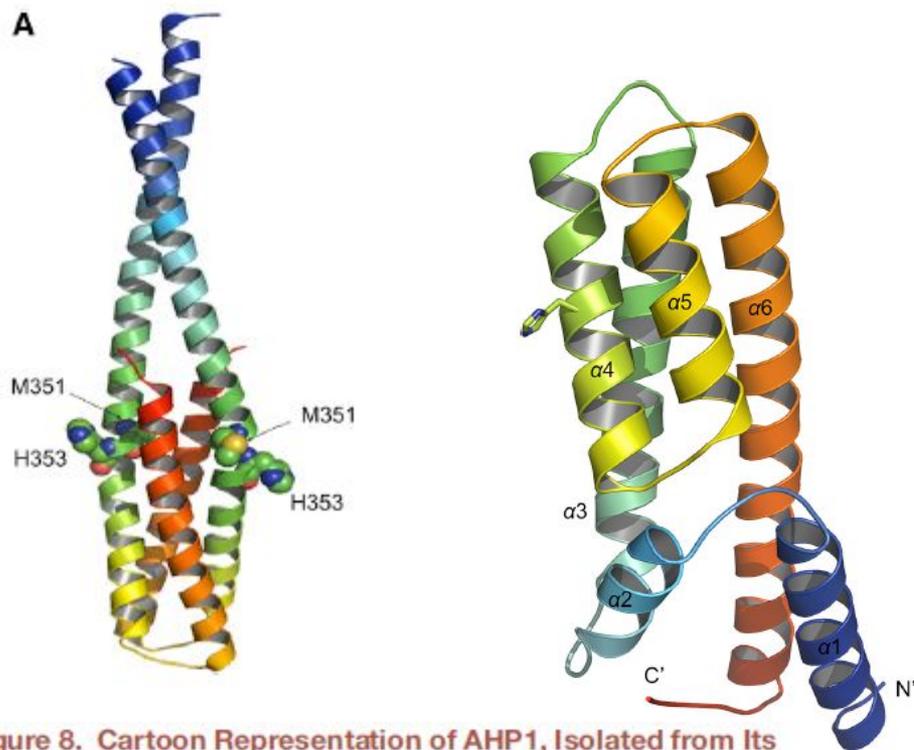


Figure 8. Cartoon Representation of AHP1, Isolated from Its Co-crystal Structure with AHK5, PDB: 4EUK.

The structure is colored in a rainbow spectrum from blue (N terminus) to red (C terminus). The phosphate-accepting histidine residue is represented in stick form.

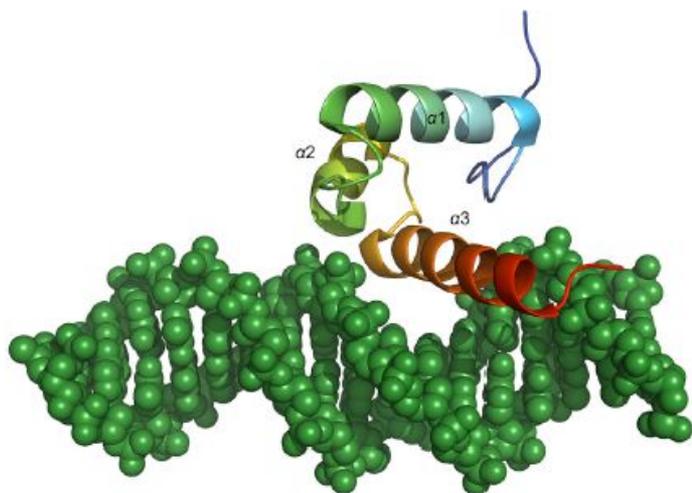
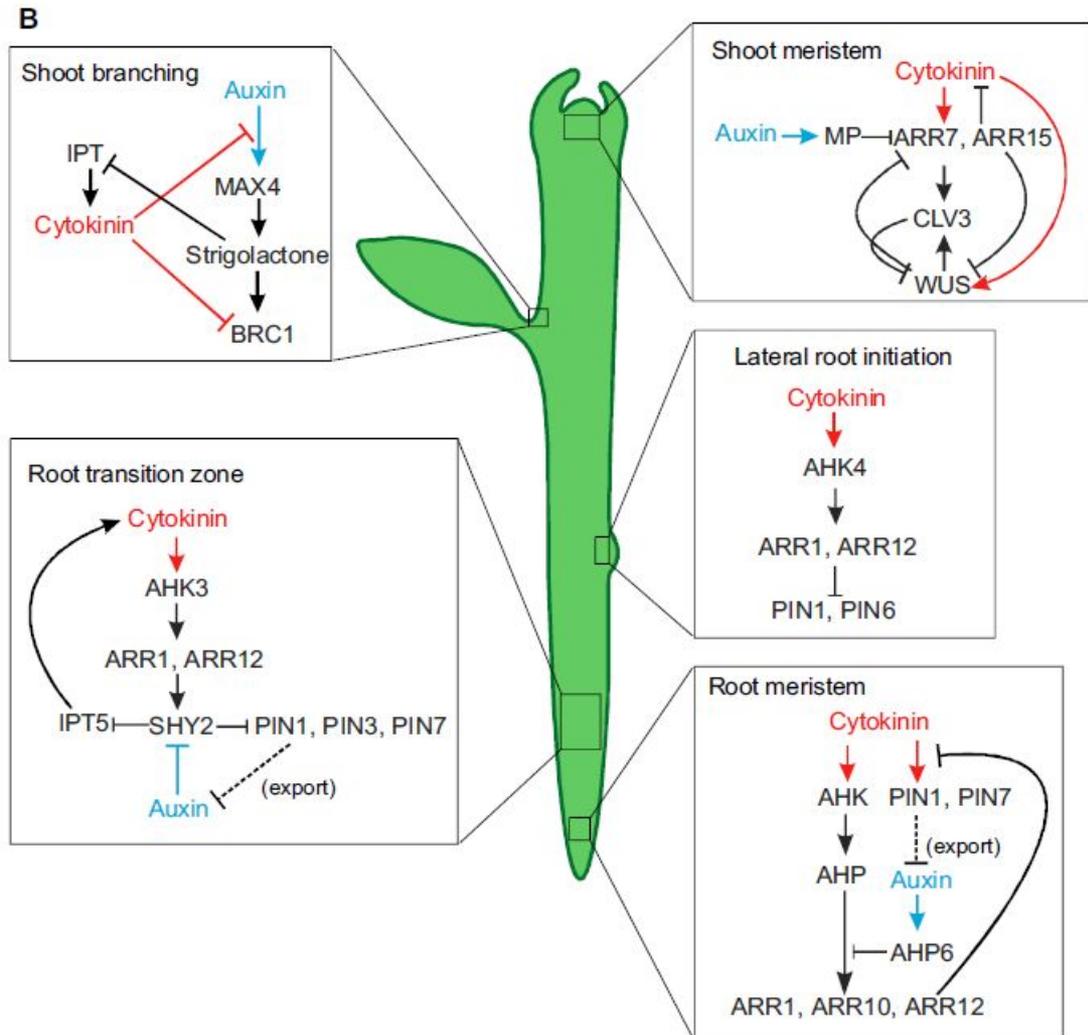
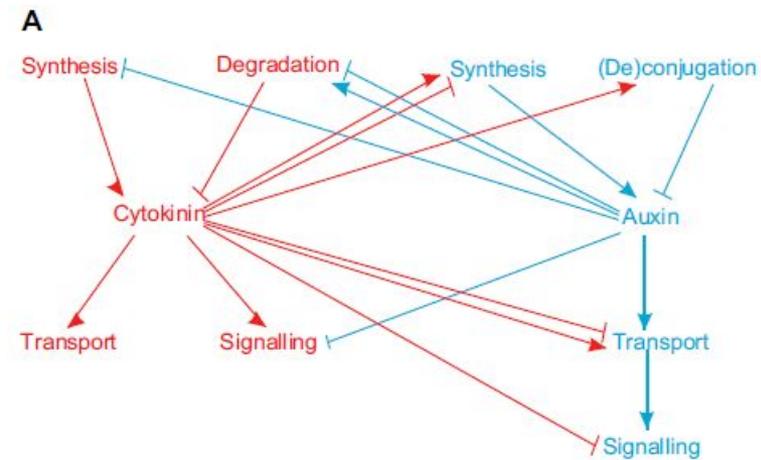


Figure 9. Schematic Model of ARR10 DNA-Binding Motif and DNA Interaction.

The structure of the ARR10 DNA-binding motif (PDB: 1IRZ) is colored in a rainbow spectrum from blue (N terminus) to red (C terminus).

Взаимодействие цитокининов с другими гормонами



Физиологические цитокинины:

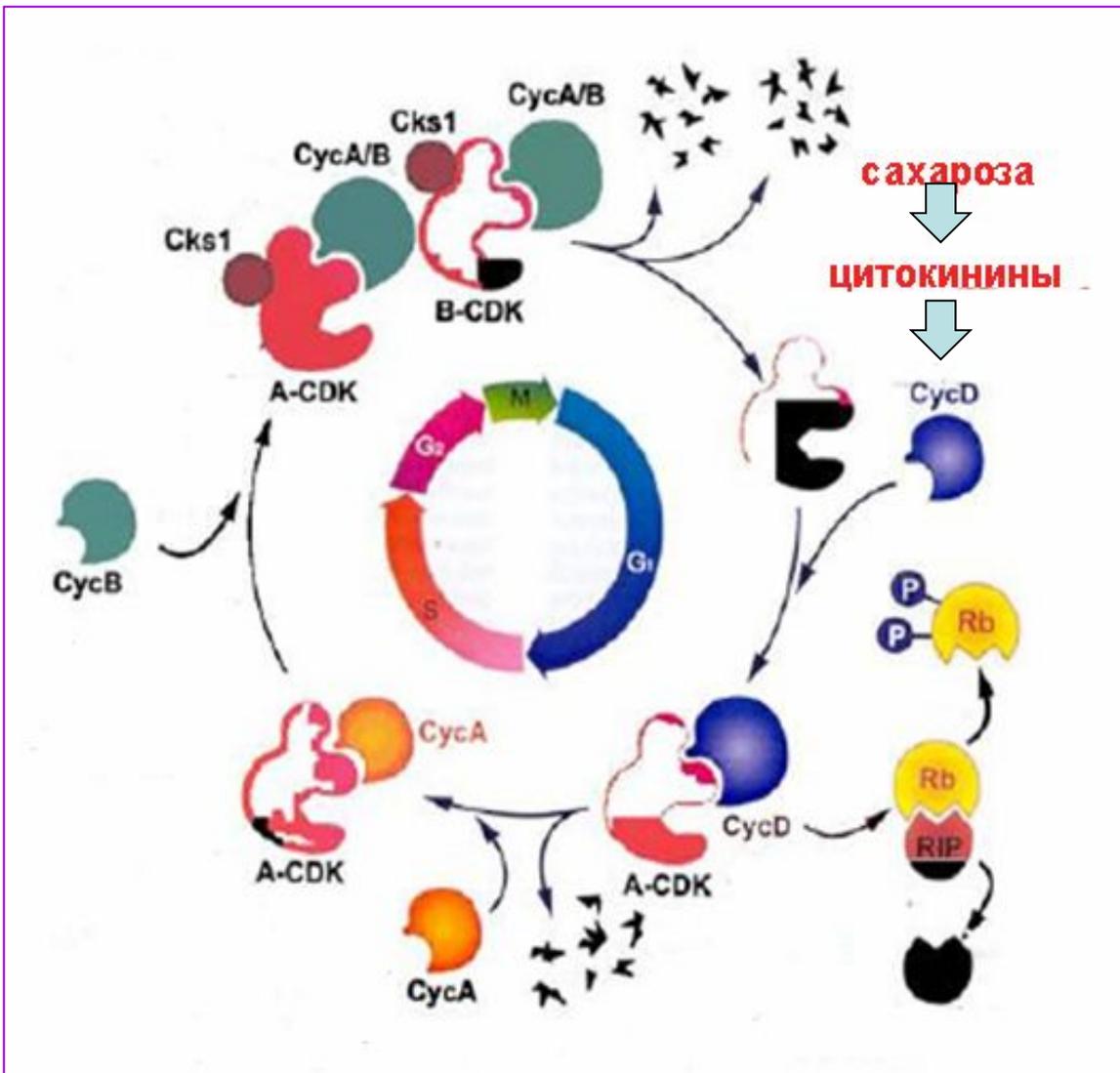
- **На уровне клетки:**

1. Контроль клеточного цикла на переходе G1-S
2. Стимуляция развития хлоропластов
3. Стимуляция транспорта питательных веществ в клетку

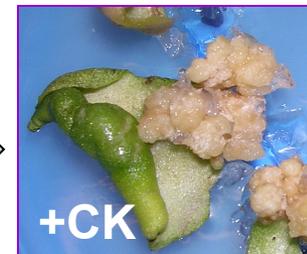
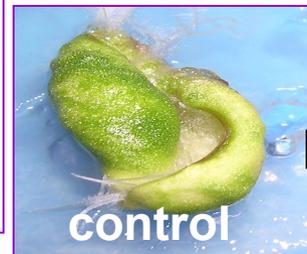
- **На уровне организма:**

1. Поддержание апикальной меристемы побега
2. Ингибирование апикальной меристемы корня
3. Снятие апикального доминирования
4. Замедление старения листьев

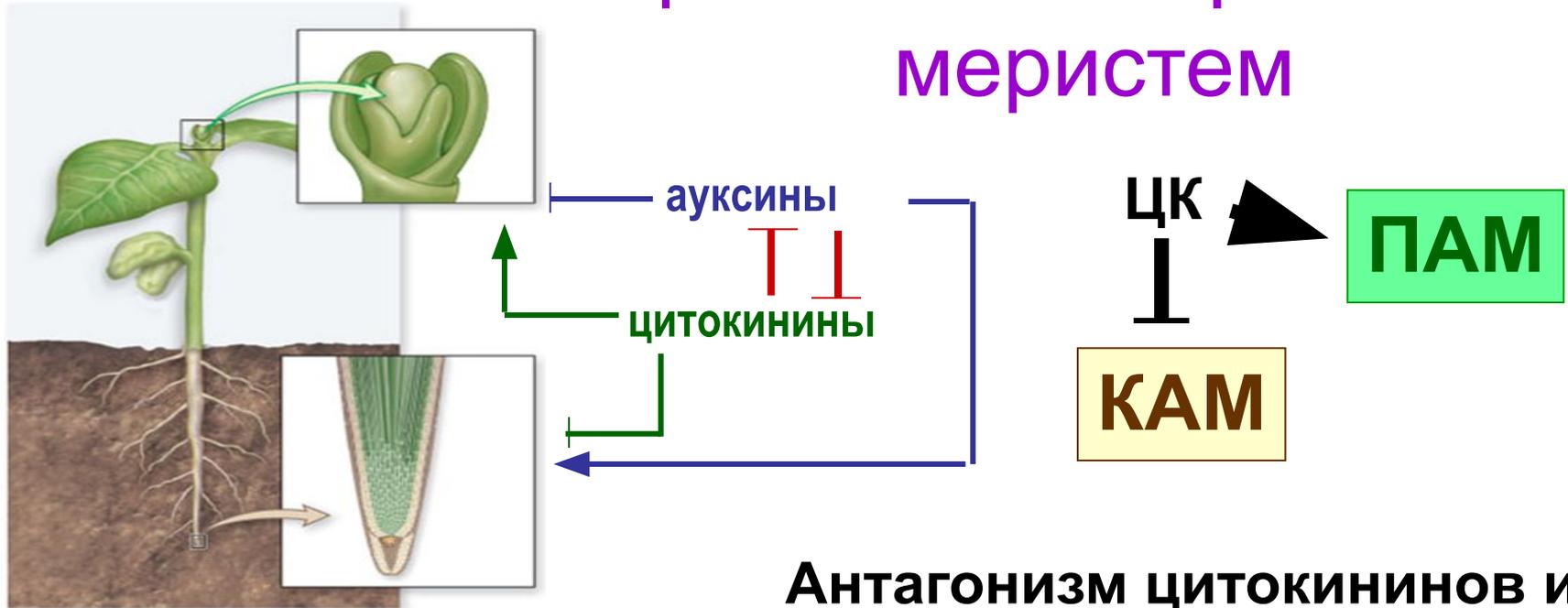
Физиологические функции цитокининов: Стимуляция деления клеток



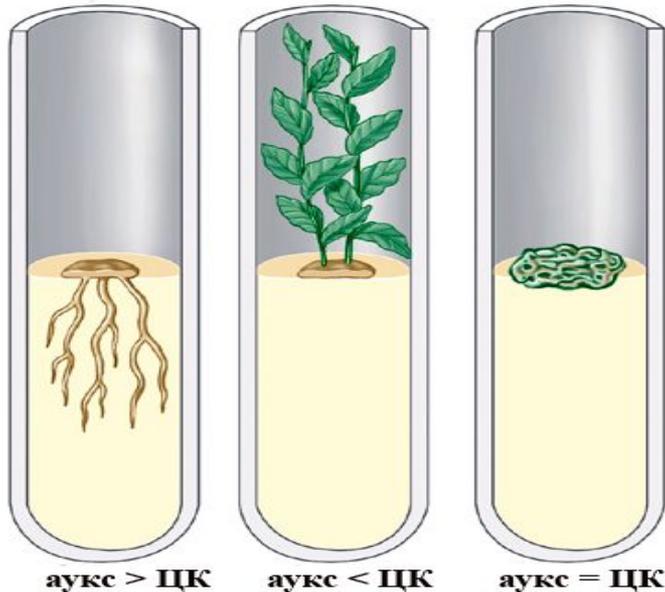
- Цитокинины позитивно регулируют экспрессию генов *CycD3* □ контроль перехода G1-S
- Цитокинин-зависимая регуляция экспрессии генов *CycD3* зависит от наличия сахарозы в среде □ координация развития растений в зависимости от наличия источников питания
- За счет регуляции *CycD3* цитокинины стимулируют каллусообразование



Цитокинины и развитие меристем



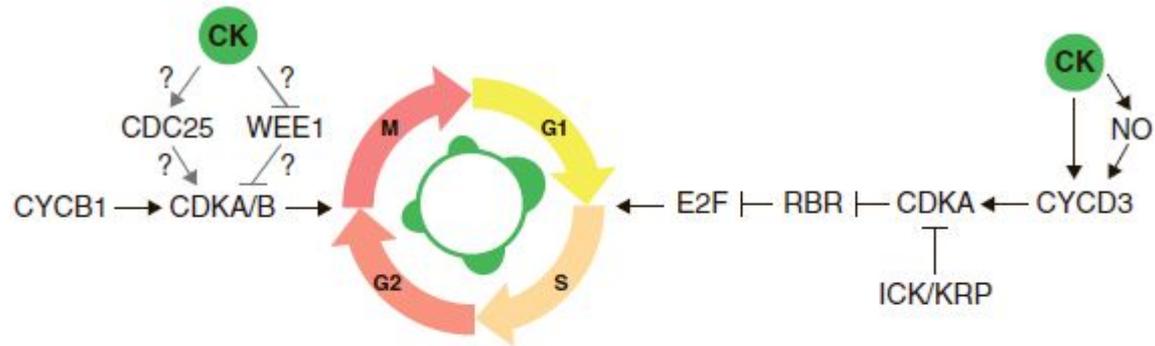
Антагонизм цитокининов и ауксинов в контроле развития ПАМ и КАМ



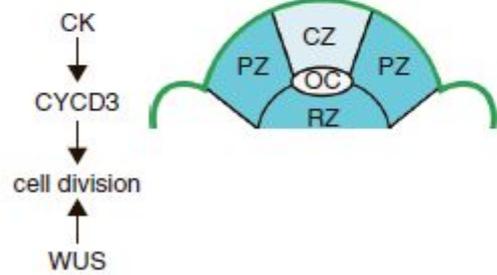
Смысл:

«архитектура» растения
(координация развития
побеговой и корневой
систем)

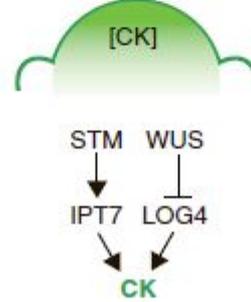
(b)



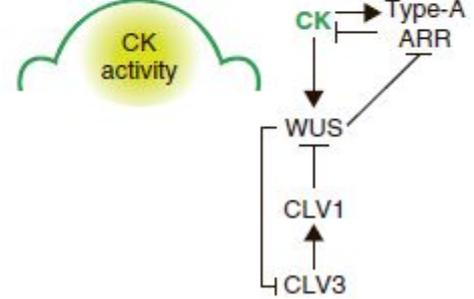
(c)



(d)

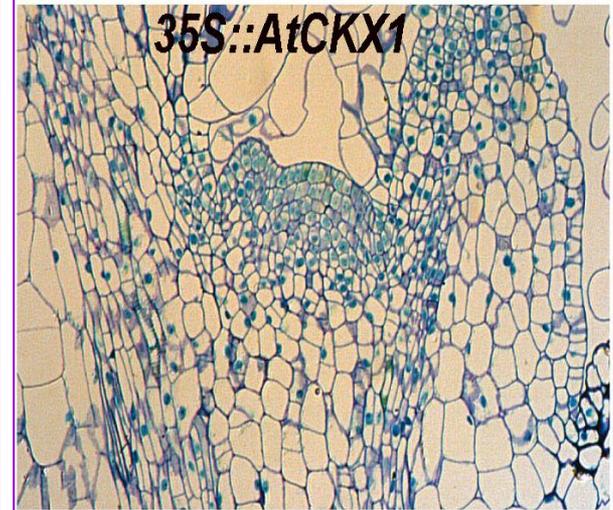
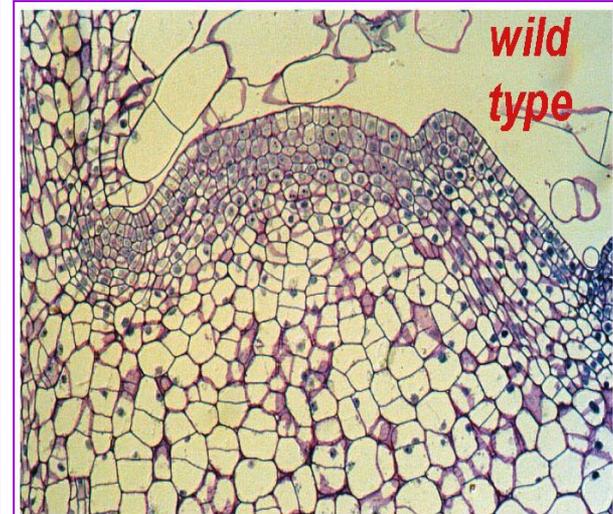
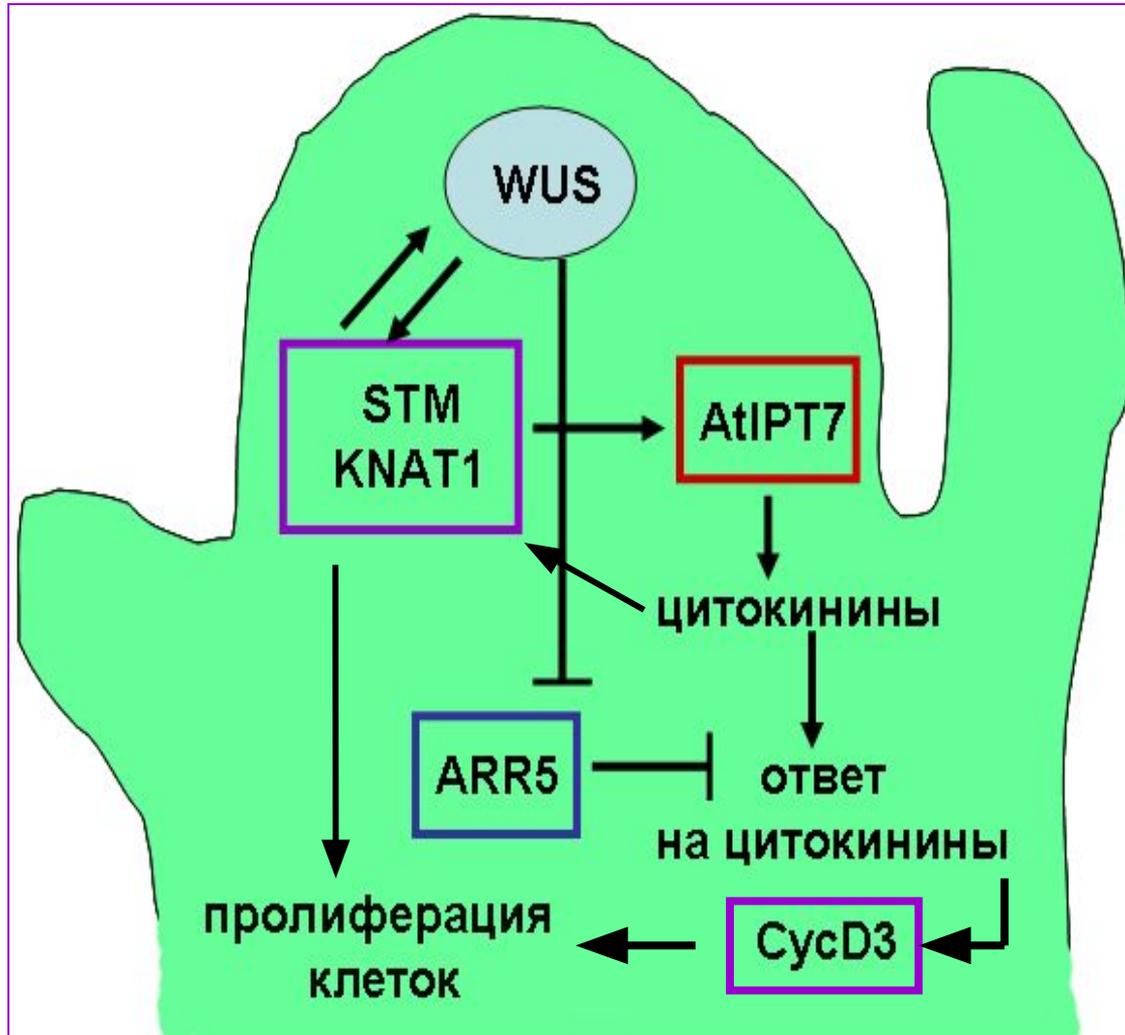


(e)

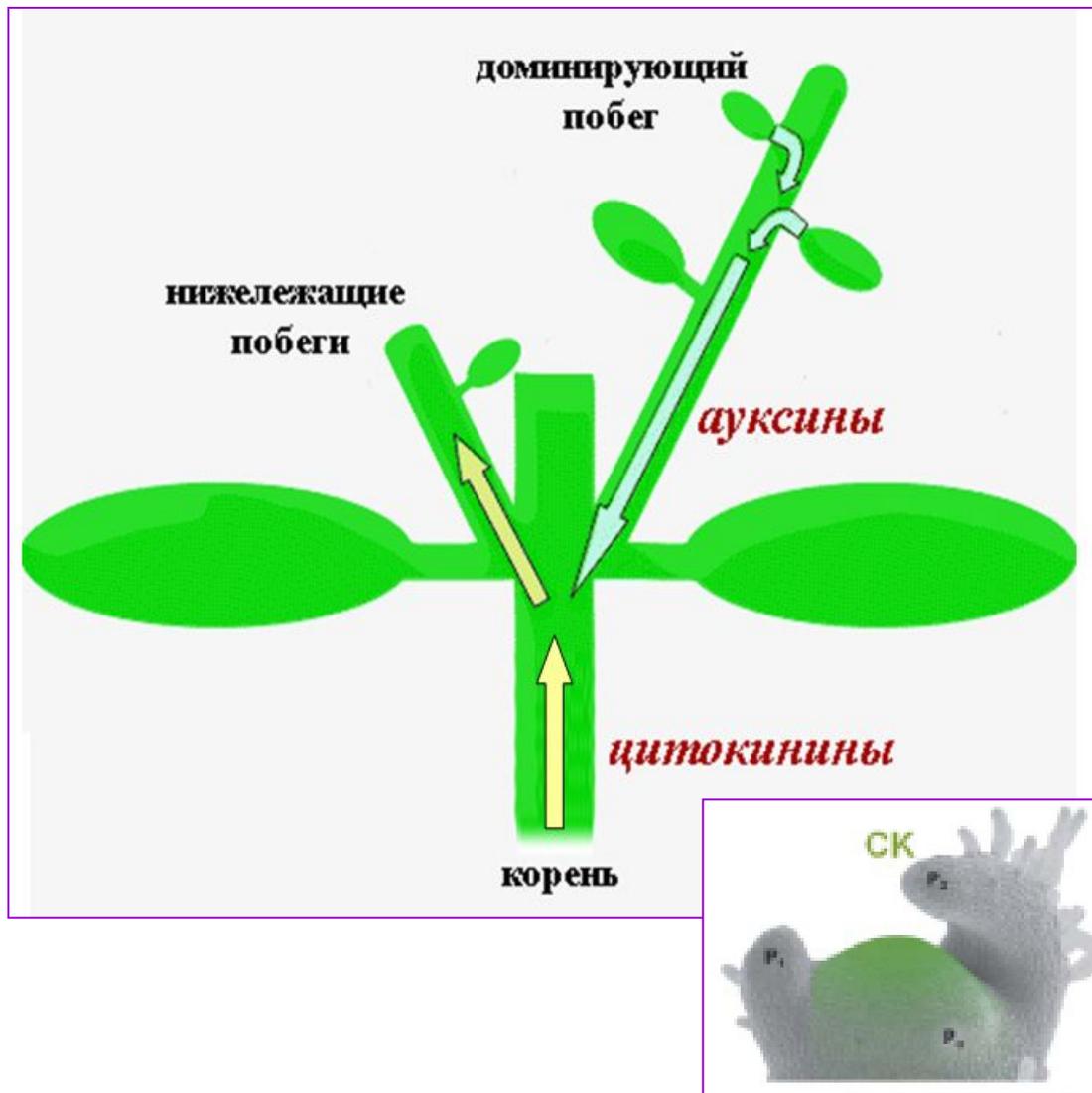


Физиологические функции цитокининов:

Поддержание апикальной меристемы побега



Физиологические функции цитокининов: Снятие апикального доминирования

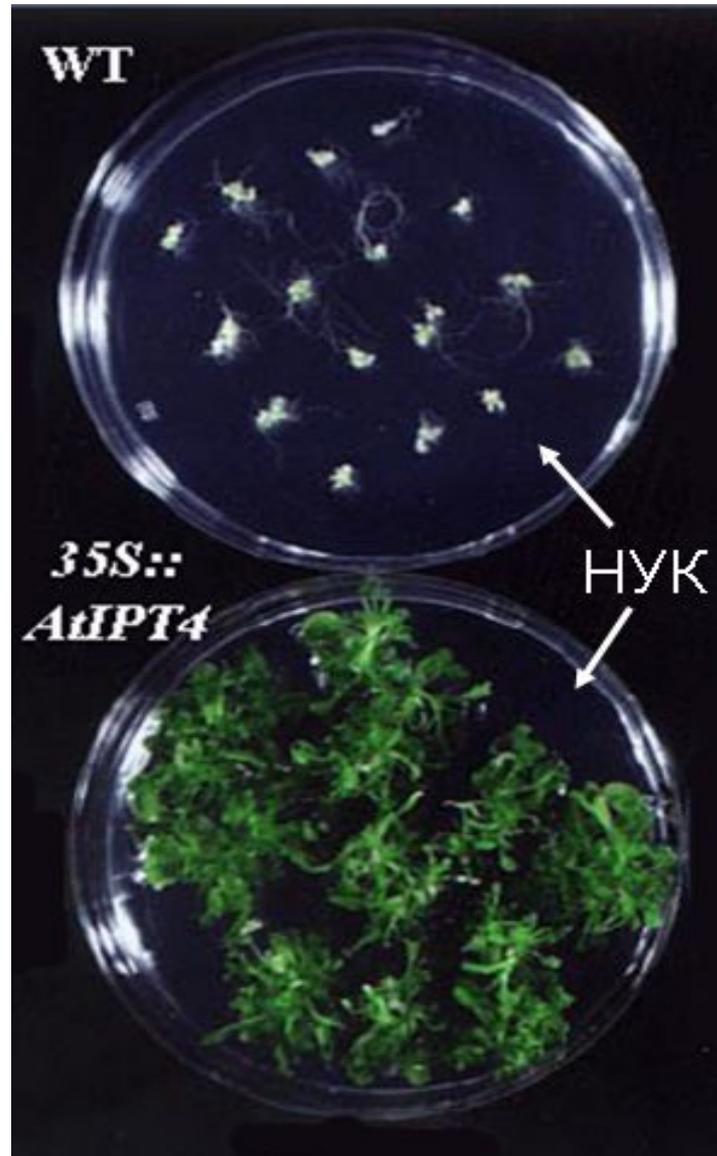
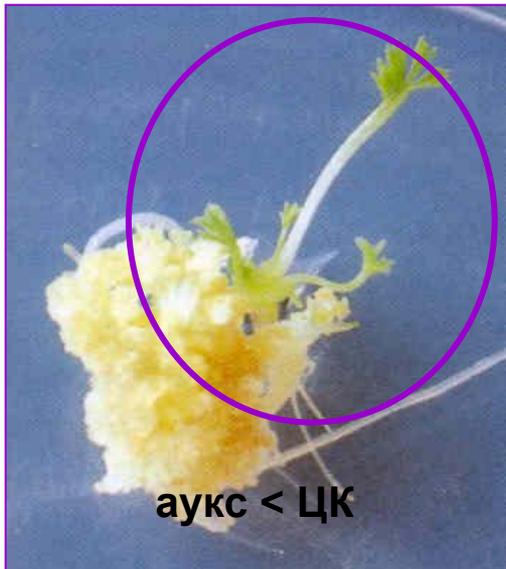
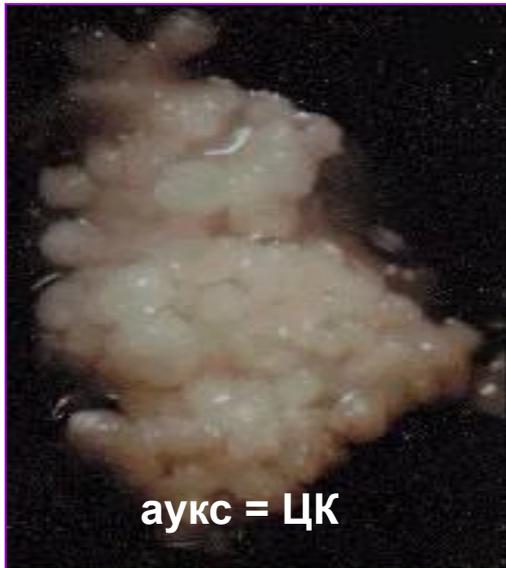


Причины:

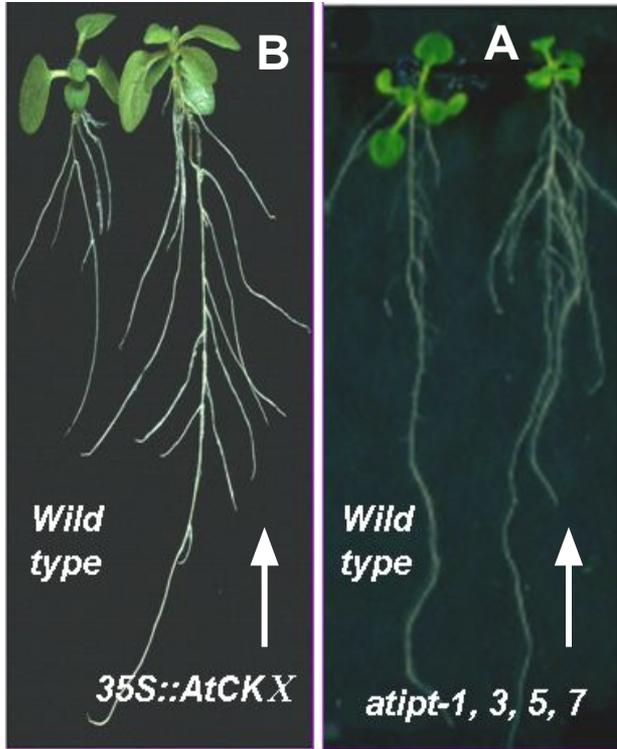
1. Акропетальный транспорт цитокининов (от корня к побегам)
2. Цитокинин-зависимая стимуляция апикальных меристем побега



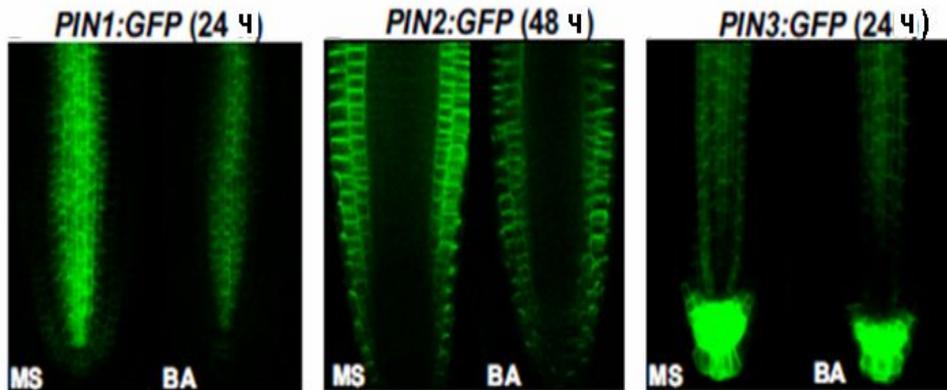
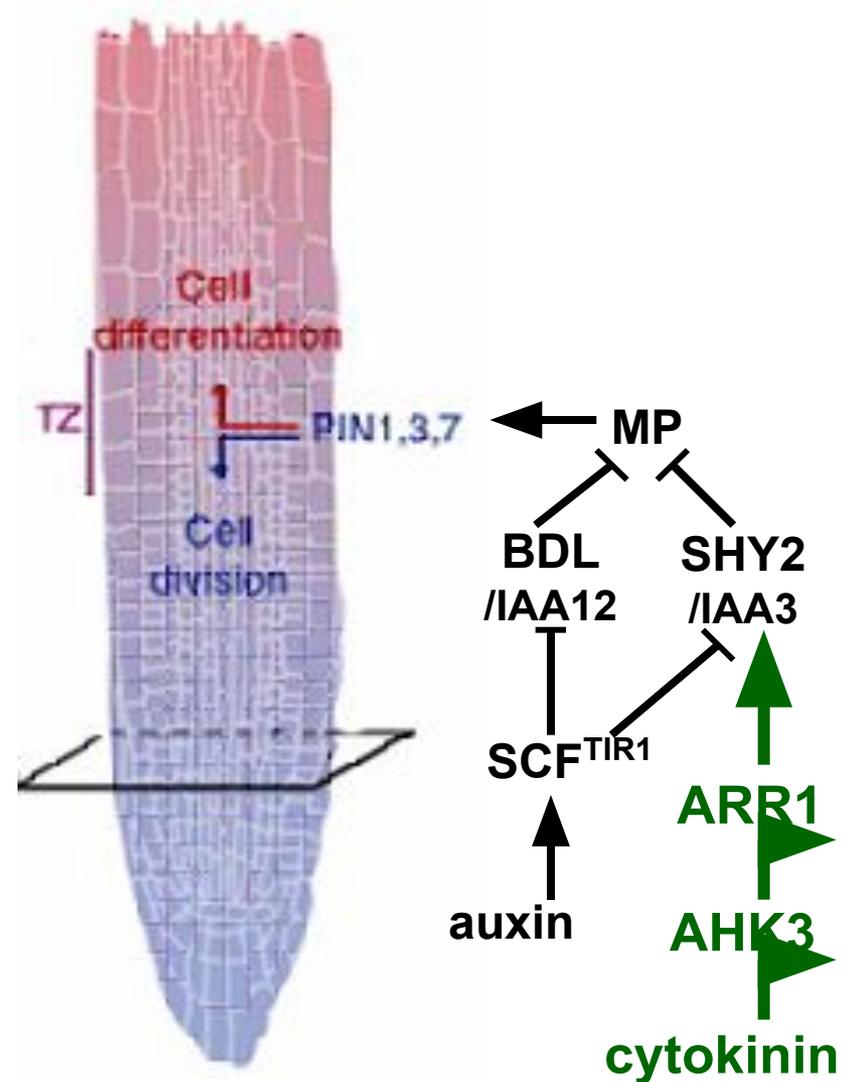
Физиологические функции цитокининов: Стимуляция развития побегов *in vitro*

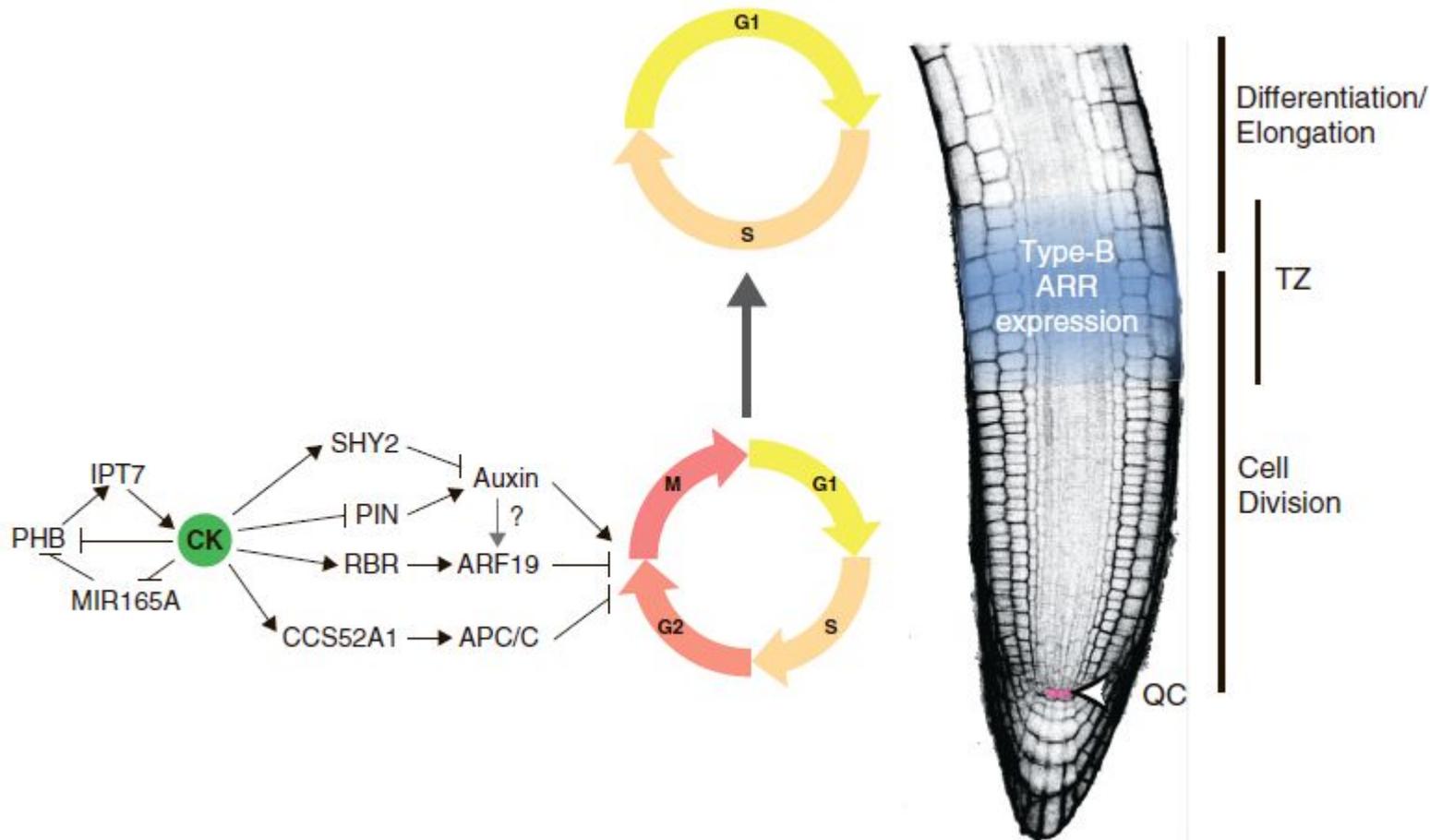


Физиологические функции цитокининов: Ингибирование корнеобразования

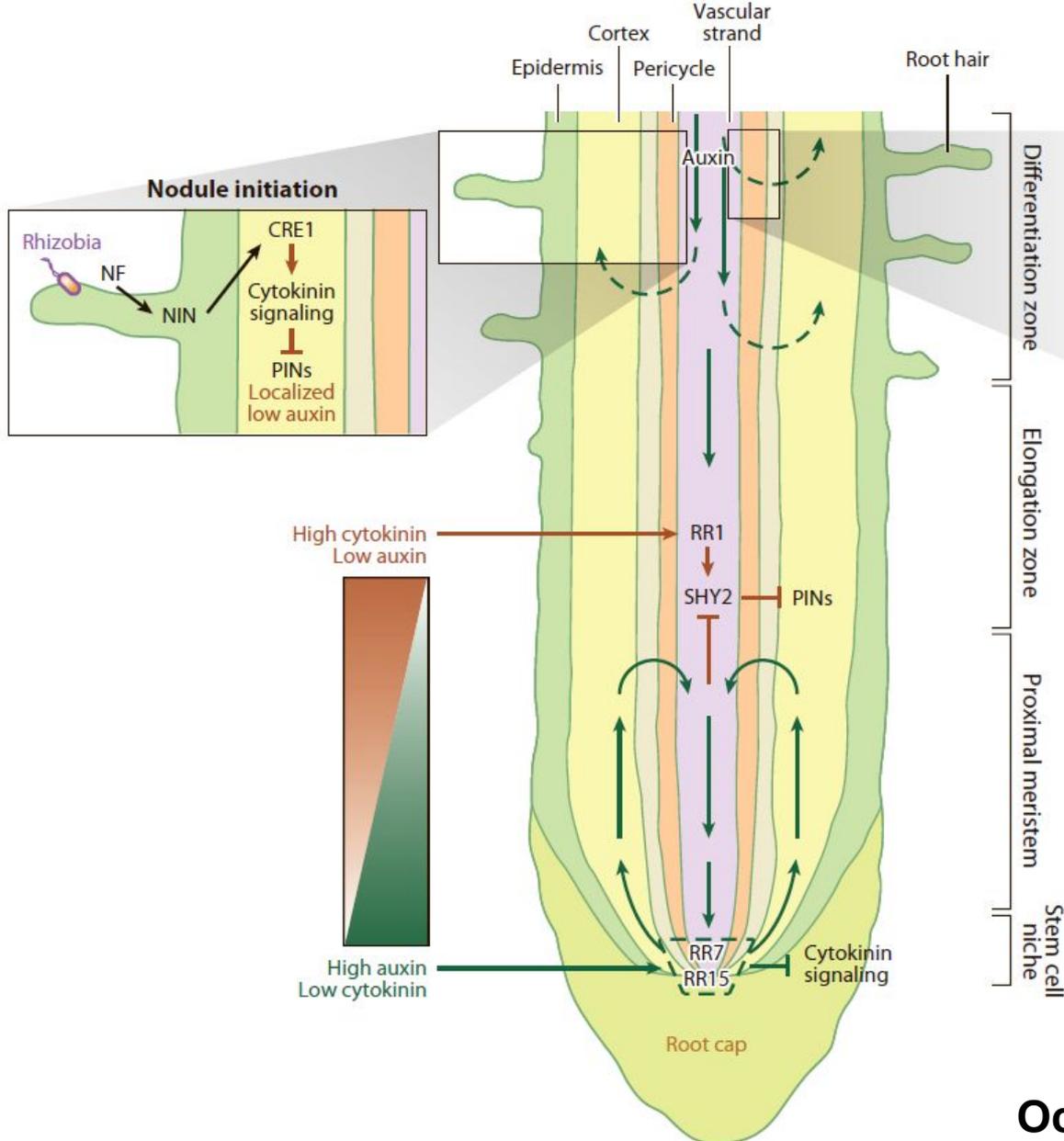


Осуществляется
через
контроль
экспрессии
генов PIN

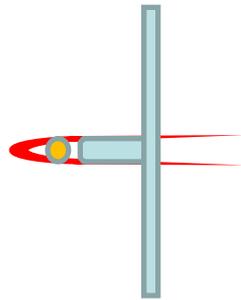
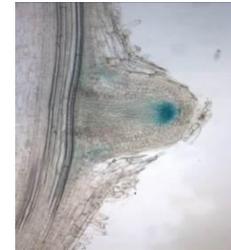
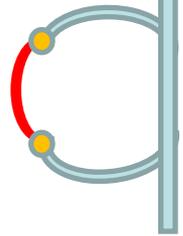
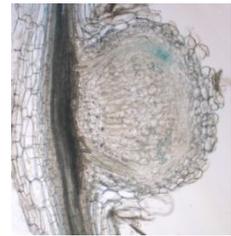




Физиологические функции цитокининов: Развитие симбиоза с ризобиями

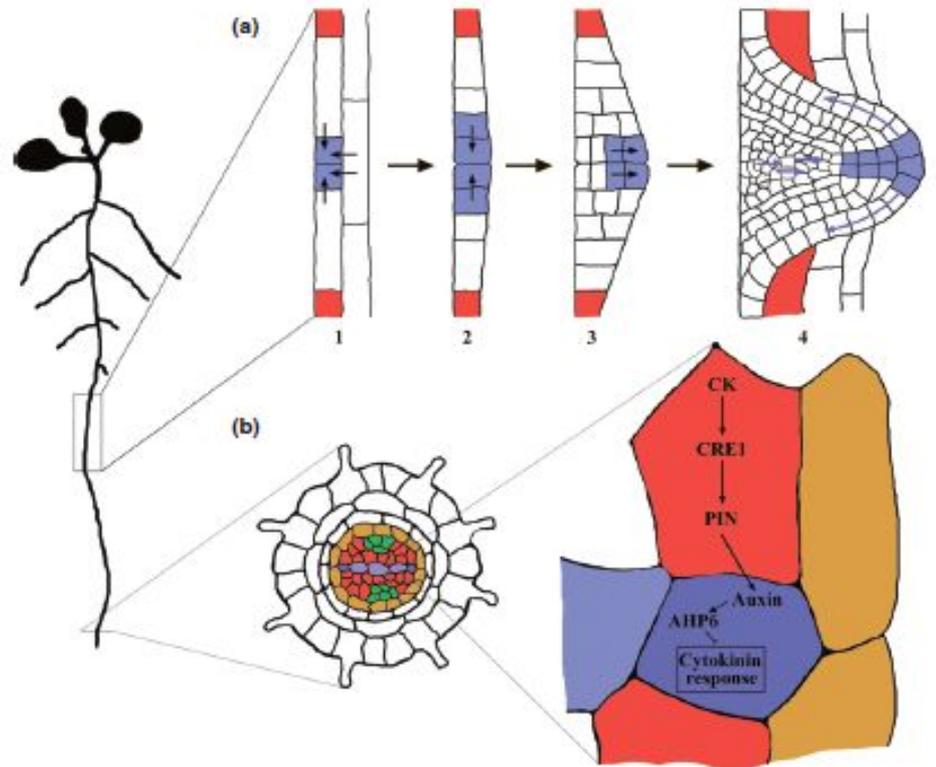
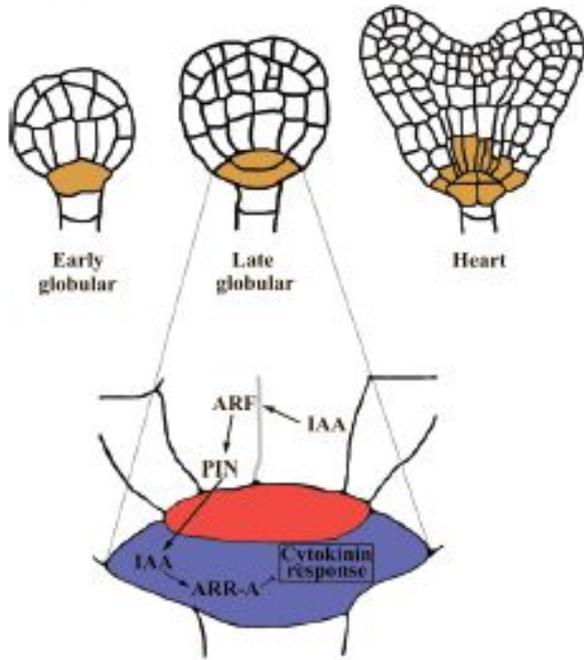


Сходство программ развития клубенька и бокового корня

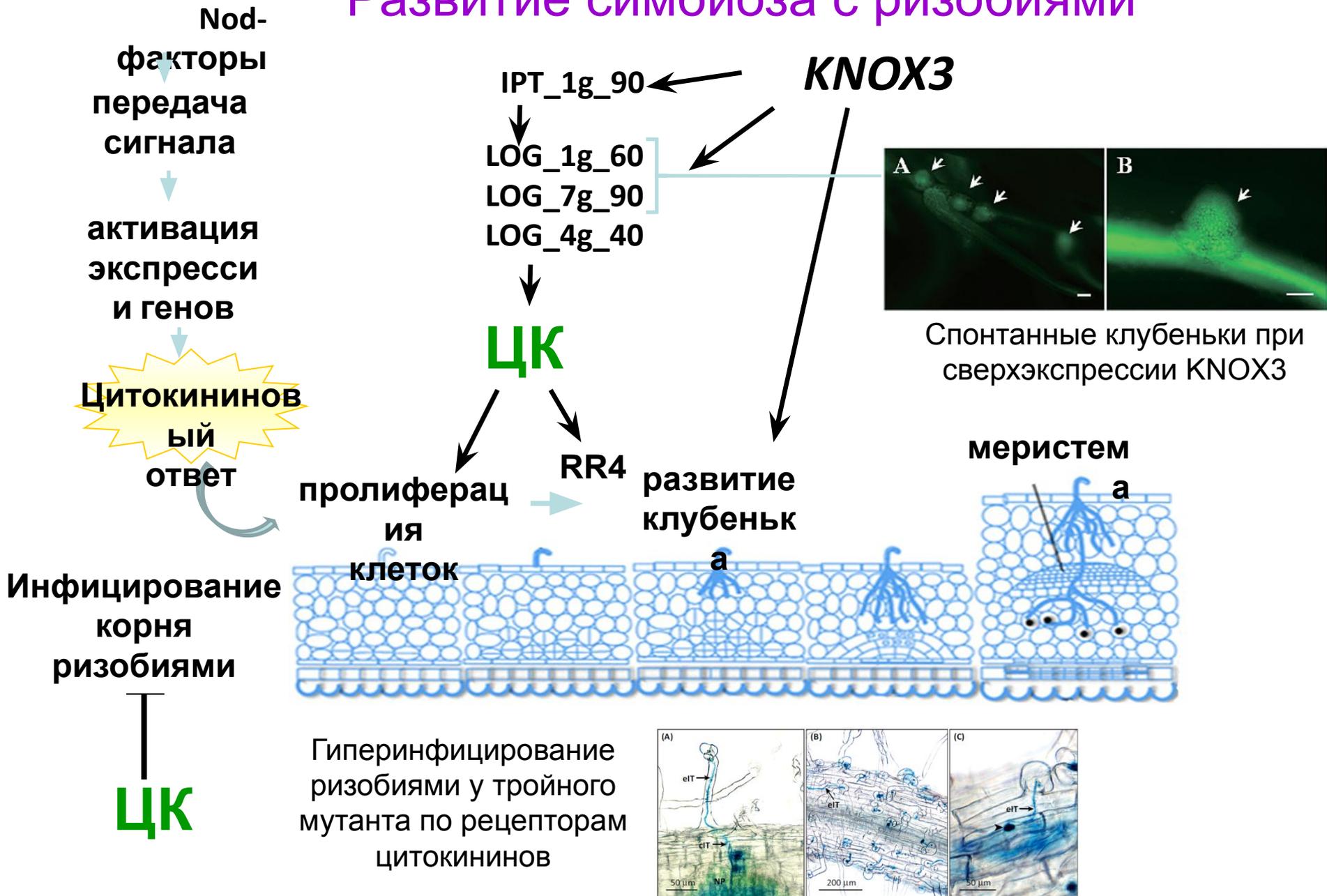


Основной регулятор – ТФ WOX5

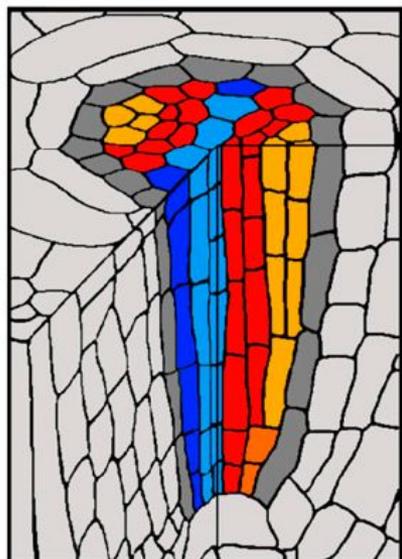
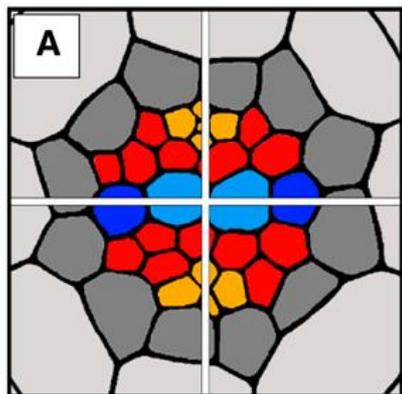
(a)



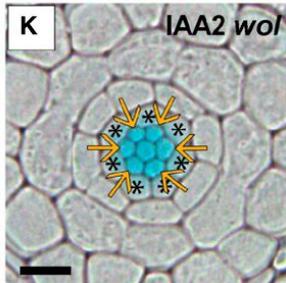
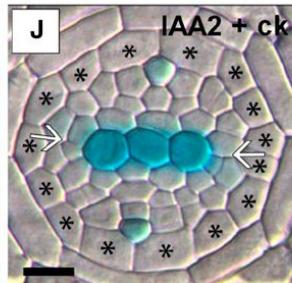
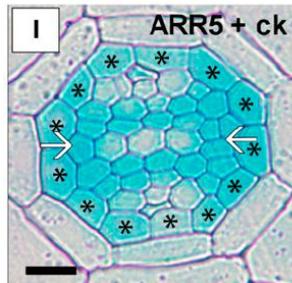
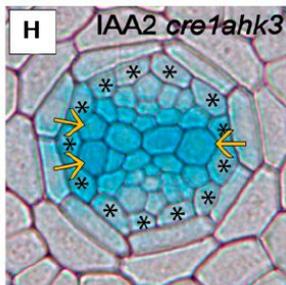
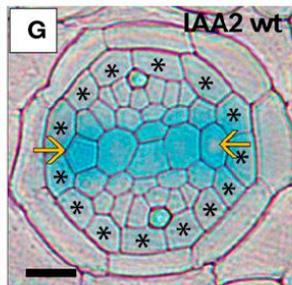
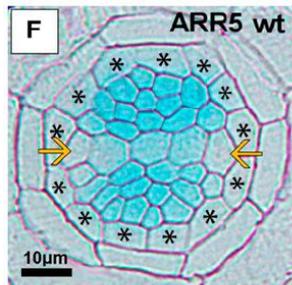
Физиологические функции цитокининов: Развитие симбиоза с ризобиями



Физиологические функции цитокининов: Поддержание камбия и развитие проводящей системы

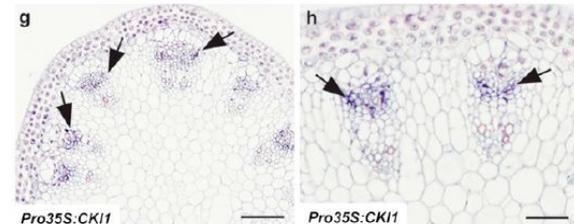
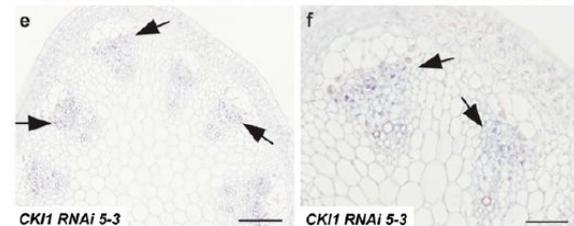
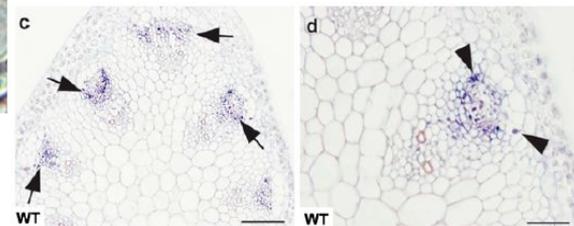


- protoxylem
- metaxylem
- intervening procambial cells
- phloem
- phloem initials
- pericycle
- outer cell layers



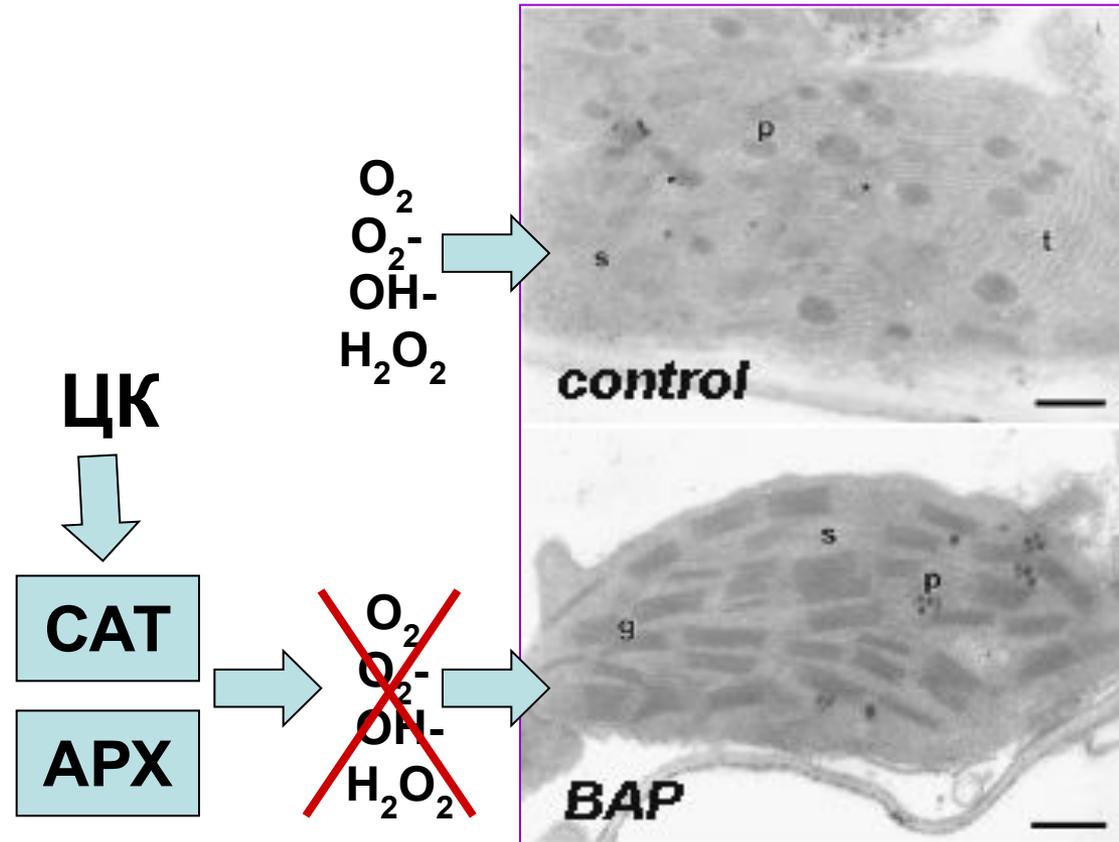
Комплементарное распределение ауксинов и ЦК в проводящей системе

CKI1 – регулятор развития камбия

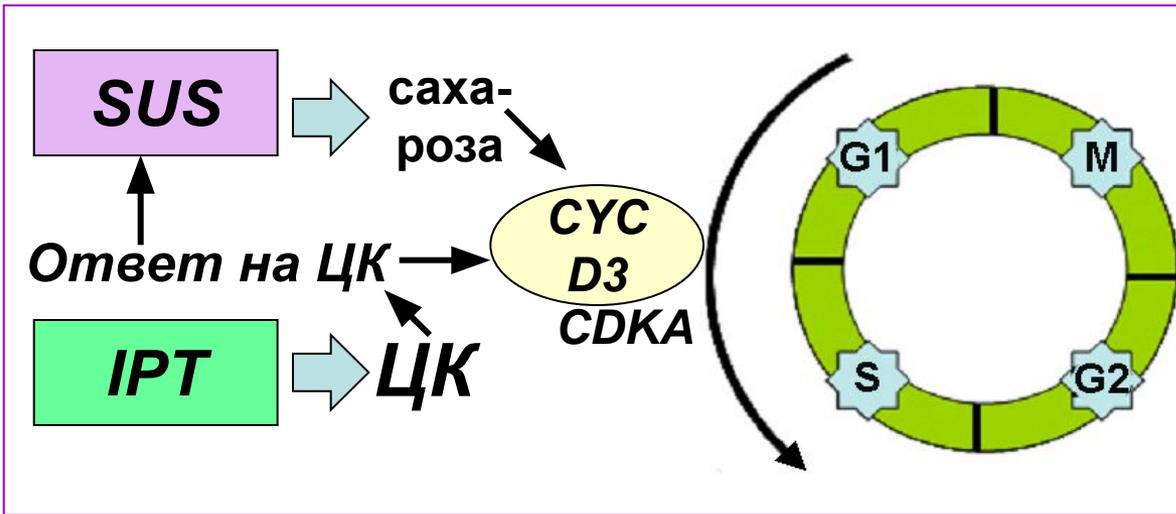


Физиологические функции цитокининов: Замедление старения листьев

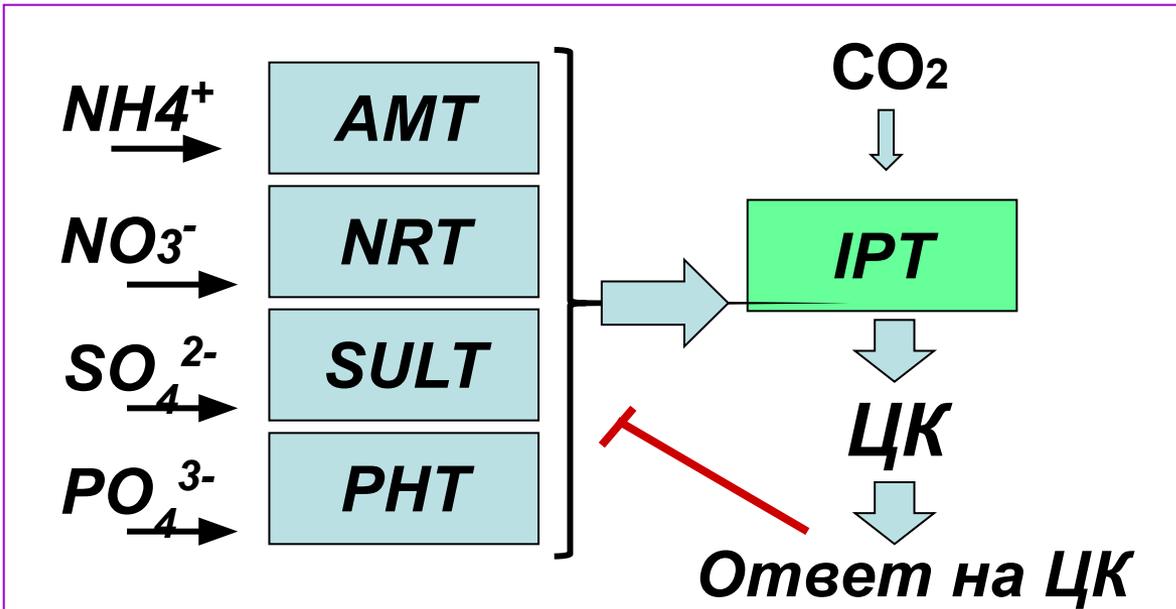
- Цитокинины повышают активность компонентов ферментативной антиоксидантной системы в хлоропластах: каталазы (CAT), аскорбат-пероксидазы (APX) □ вызывают снижение концентрации ROS (O_2 , O_2^- , OH^- , H_2O_2) □ препятствуют разрушению хлоропластов



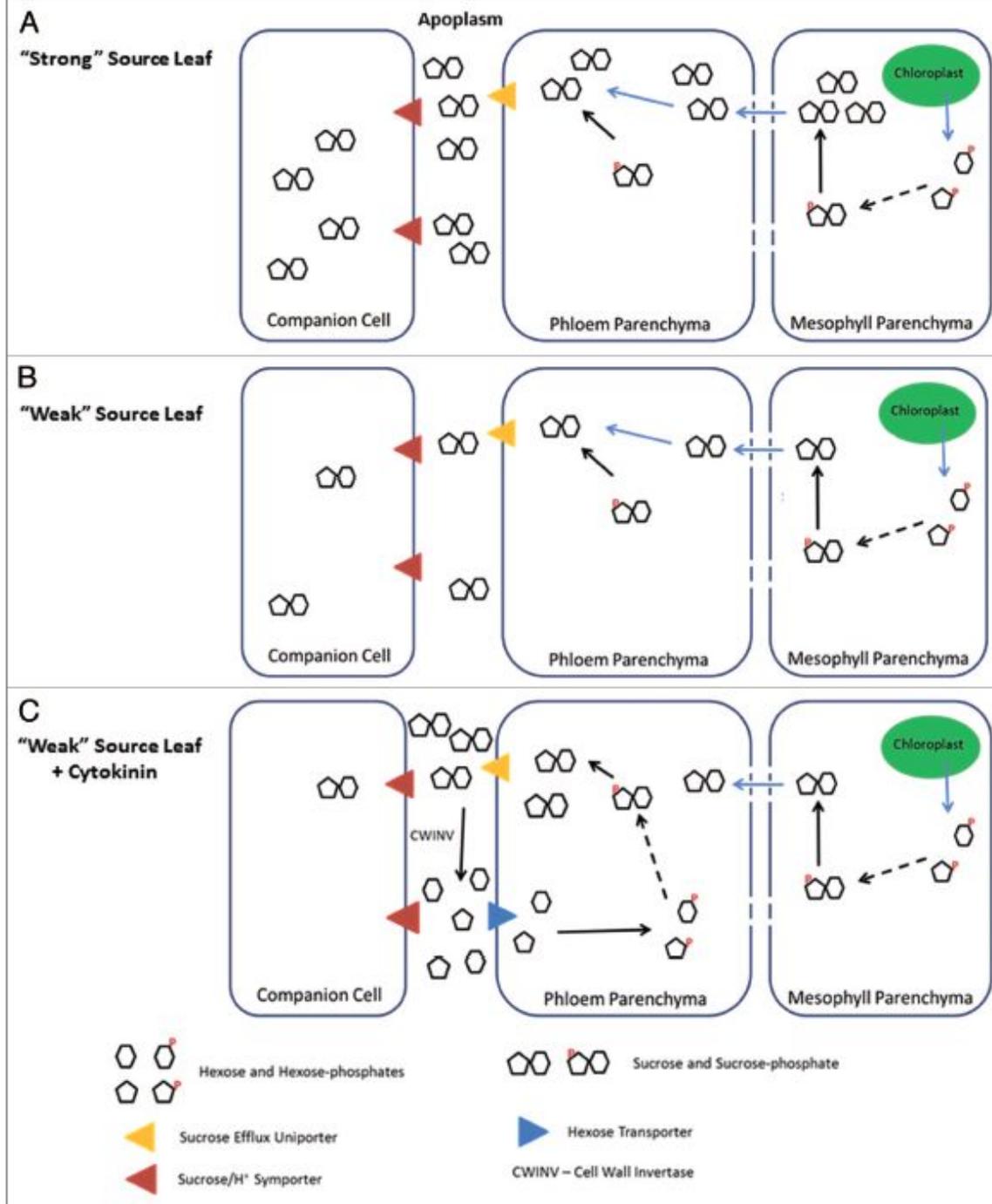
Физиологические функции цитокининов: Регуляция развития растения в зависимости от наличия источников питания



1. Регуляция экспрессии СусD3 цитокининами при наличии сахарозы (источник органического питания)

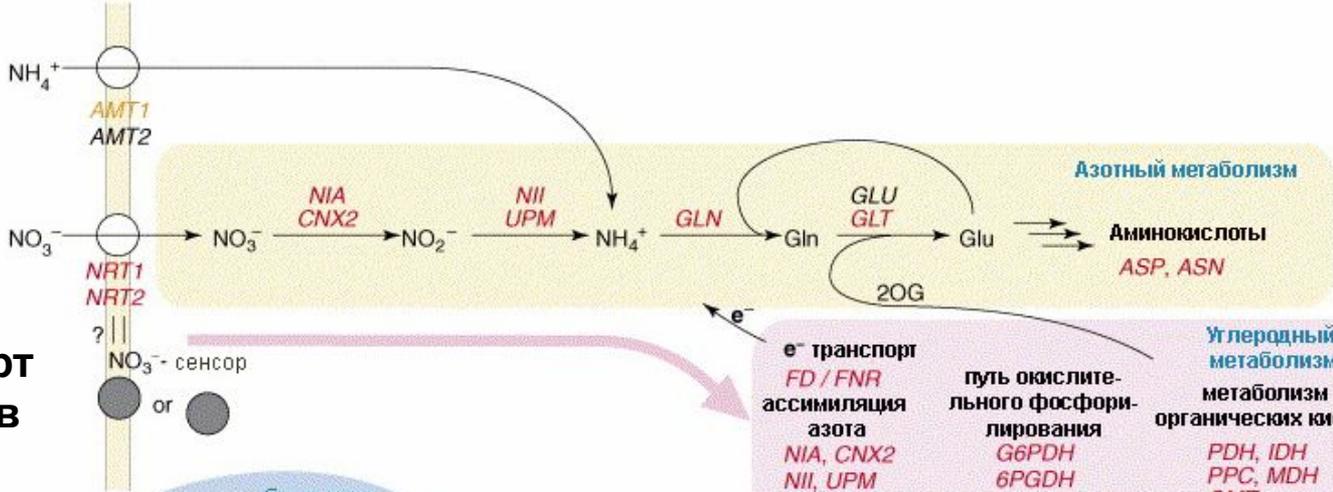


2. Регуляция биосинтеза цитокининов в зависимости от источников неорганических ионов (в особенности нитратов)



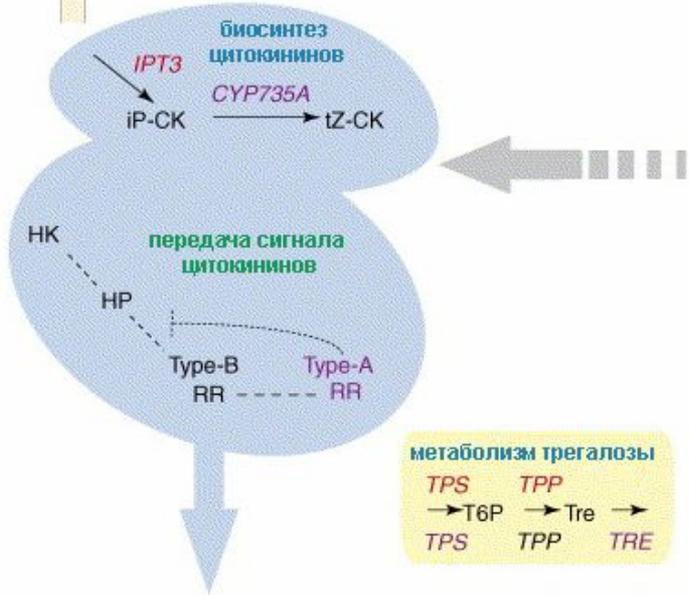
Цитокинин- зависимая регуляция органического питания растений

(на примере
метаболизма и
транспорта сахаров в
листьях)



Транспорт нитратов

Биосинтез ЦК



Метаболизм нитратов

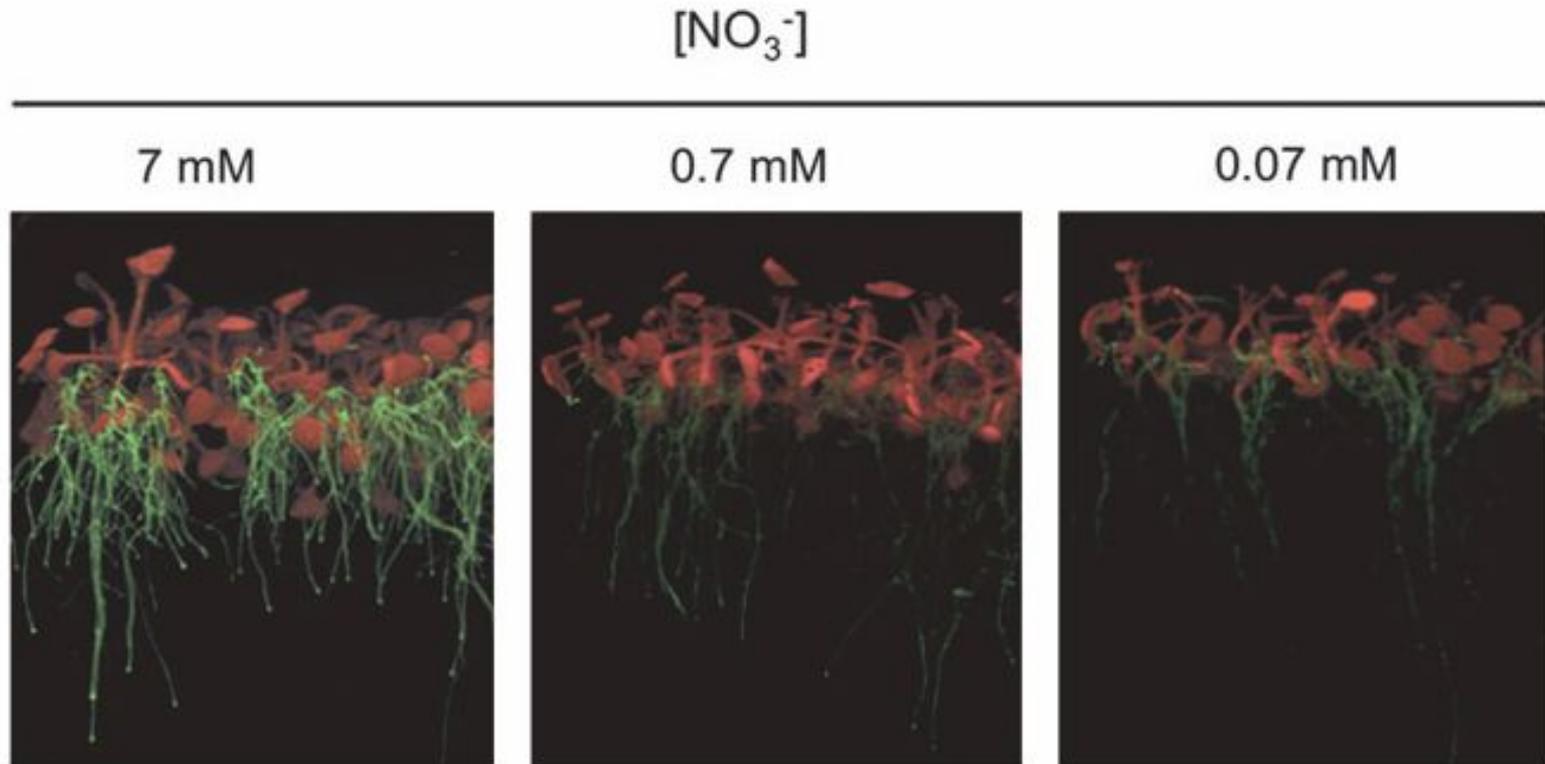
Транспорт других солей

e⁻ транспорт FD / FNR ассимиляция азота NIA, CNX2 NII, UPM GLN, GLT ASP, ASN	путь окислительного фосфорилирования G6PDH 6PGDH TKL, TAL	Углеродный метаболизм метаболизм органических кислот PDH, IDH PPC, MDH OMT PPDK
биосинтез цитокининов IPT3 IPT5	гликолиз PGAM PGI, ALD ENO, PK	метаболизм сахаров FK INV
метаболизм трегалозы TPS TPP	ассимиляция серы APR SIR	вторичный метаболизм метаболизм фенолпропаноидов и флавоноидов, метаболизм Phe синтез алкалоидов
Транспорт неорганических солей NRT1;1 AMT1;1 SULTR3;5 NRT2;1 AMT1;3 SULTR4;1 NRT2;2 SULTR4;2 NRT2;4 SULTR1;2 SULTR5;1 SULTR2;2		Транскрипционные факторы AGL28, AGL8 SPL15, SPL8 CBF1, COL6

Ответ на ЦК

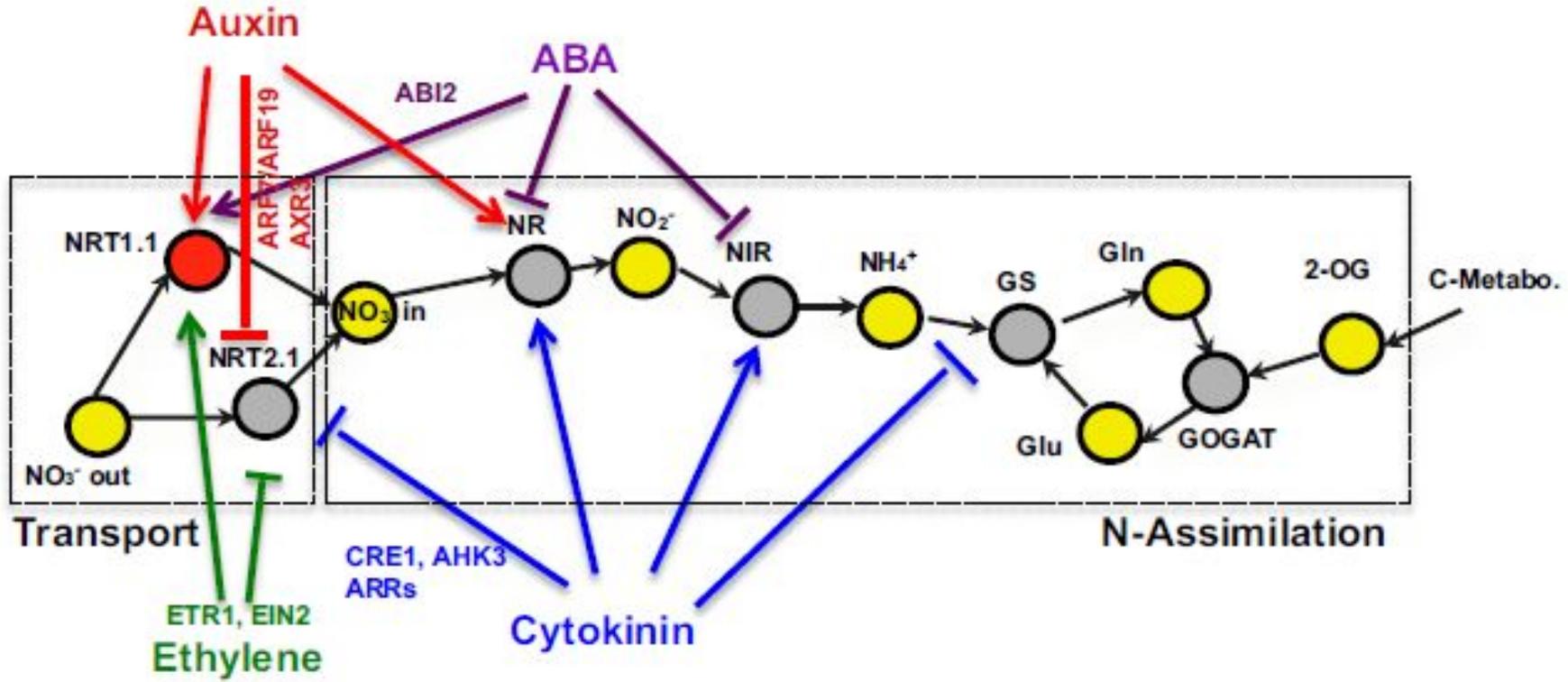
Транспорт неорганических солей	Метаболизм фитогормонов	углеродный метаболизм	синтез белка	транскрипционные факторы
нитраты NRT1;3 NRT2;1 NRT2;3 NRT2;6	сульфаты SULTR1;1 SULTR1;2 SULTR4;2	цитоконины CYP735A CKX4 CKX5	ауксины NIT3	гиббереллины GA20ox GA4
соли аммония AMT1;1 AMT1;2 AMT1;3	фосфаты PHT1;2 PHT1;4	передача сигнала цитокининов Type-A RR	растяжение клеточной стенки EXP	метаболизм трегалозы TPS TPP TRE
		Ответ на цитокинины		

Регуляция уровня цитокининов в зависимости от источников минерального питания



Экспрессия IPT::GFP в корнях

Взаимодействие гормонов в нитратном питании растений



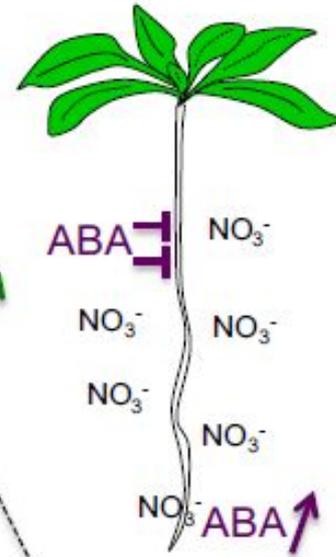
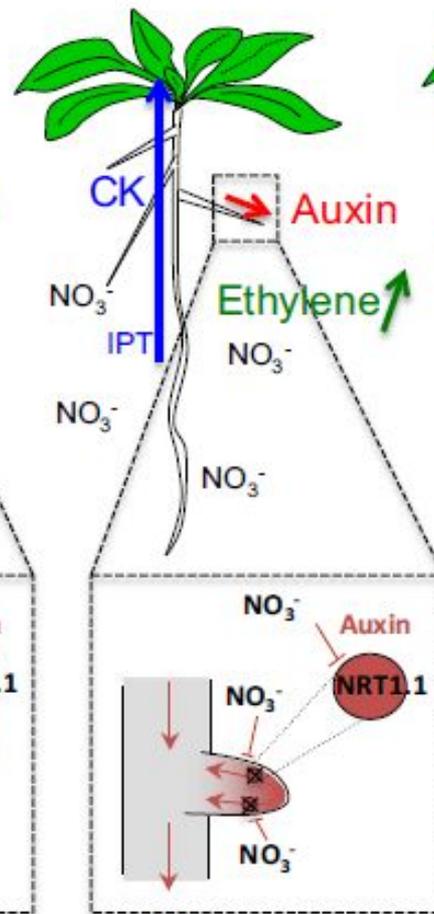
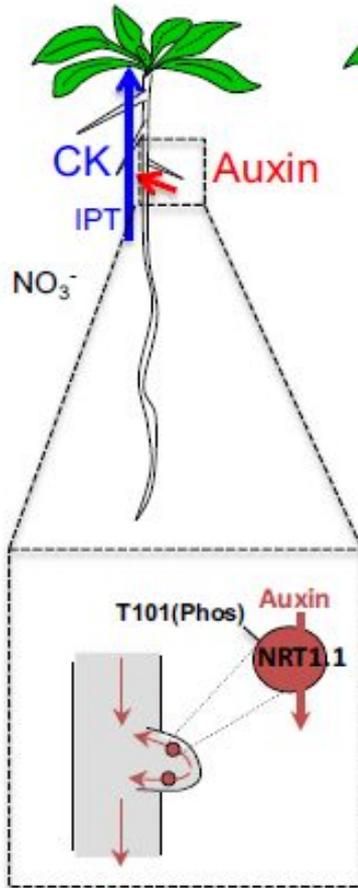
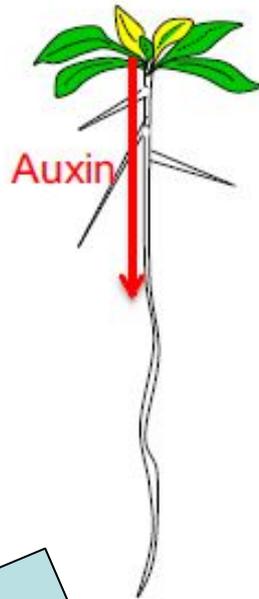
ИУК
ЦК
С2Н4
АБК

No Nitrogen

Low Nitrate
(~0.1mM)

High Nitrate
(~0.5 to 5mM)

Very High Nitrate
(~5 to 100 mM)



Почва бедна азотом:
Много ИУК – корни растут
вглубь и вширь
Мало ЦК – листьев мало,
они быстро стареют.