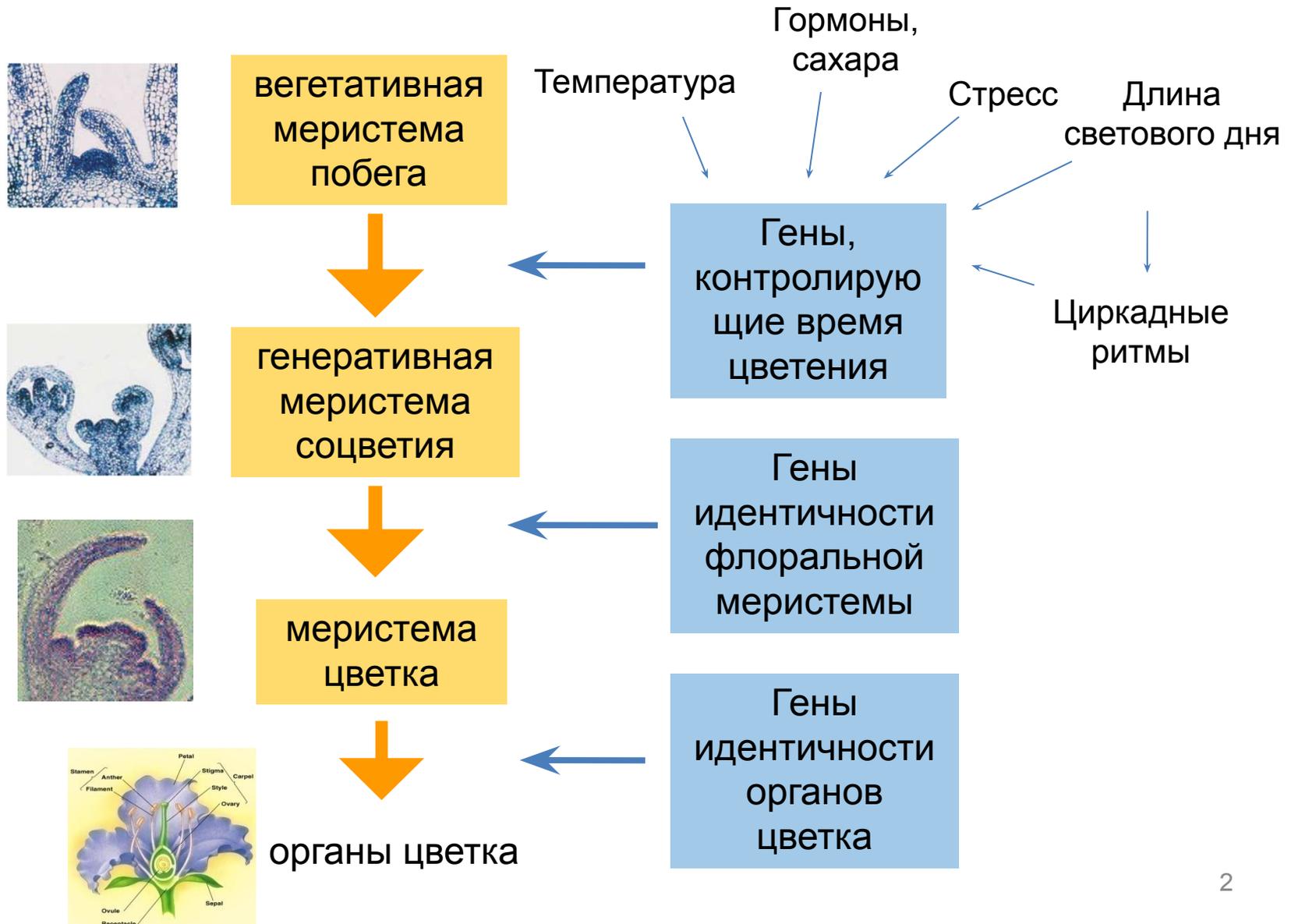


Молекулярно-генетические механизмы инициации цветения

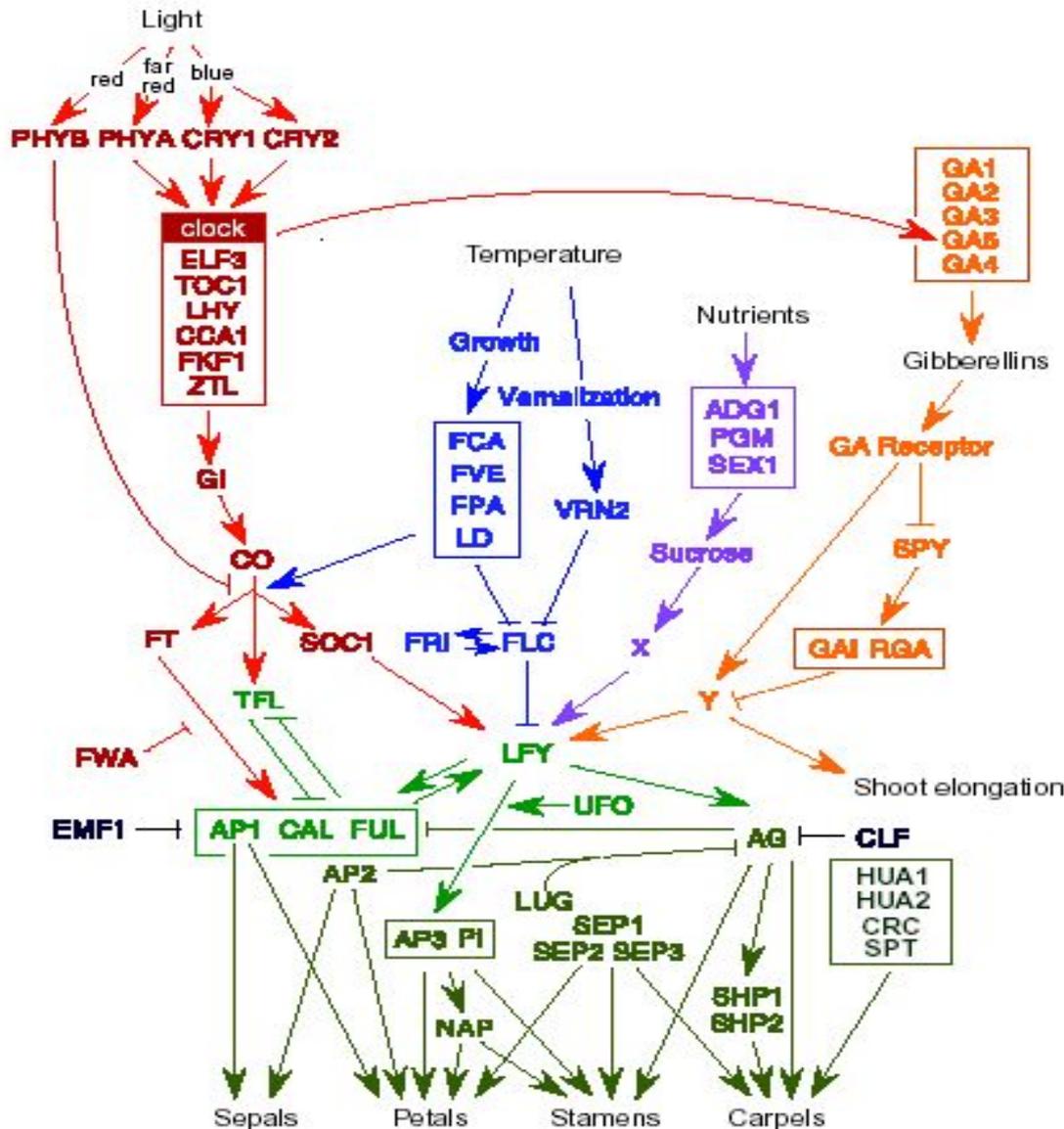
«ГЕНЕТИКА РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ»
кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ



Регуляция различных этапов развития цветка

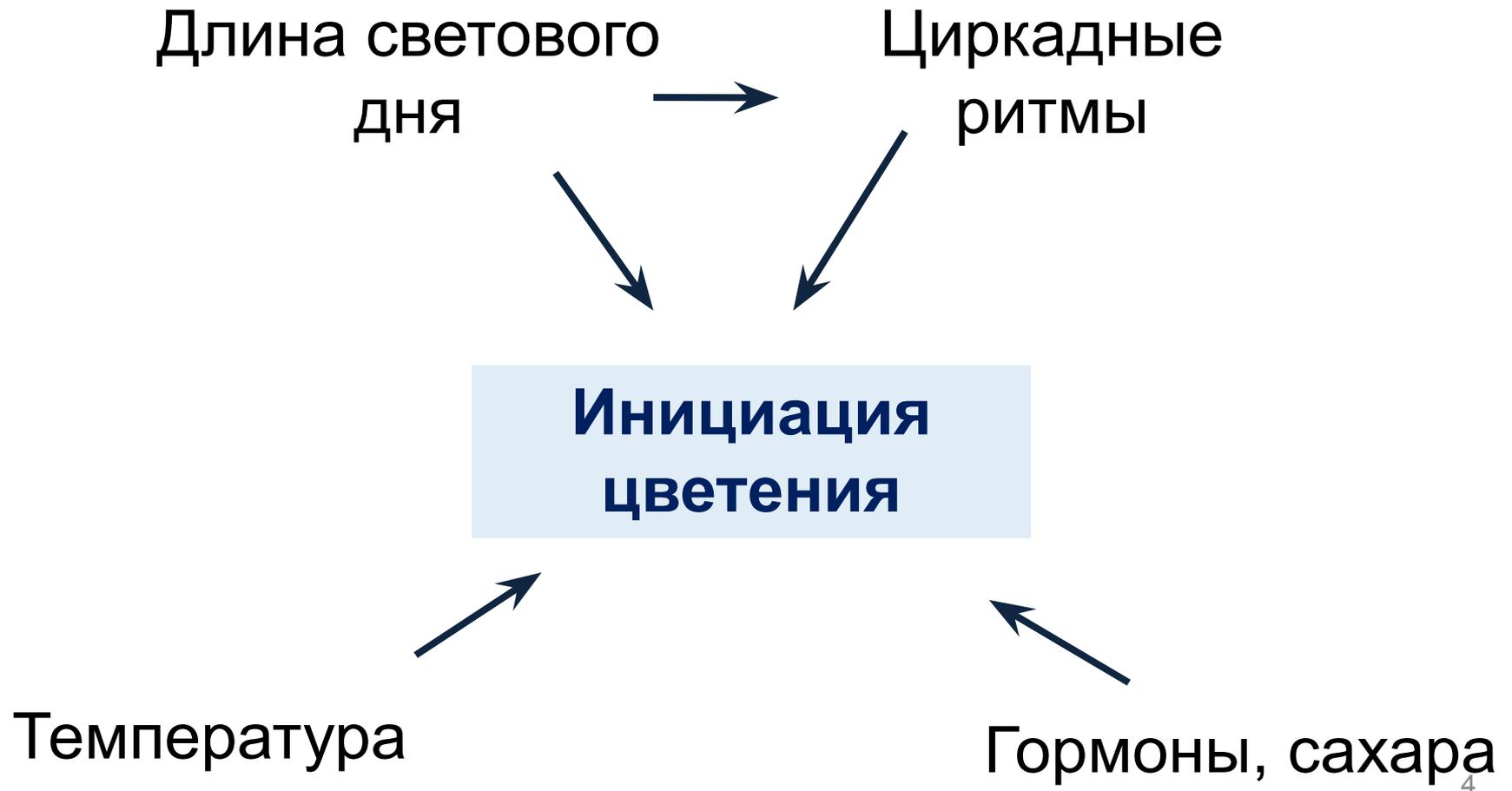


Генетическая регуляция цветения у *A.thaliana*



Гены,
контролирующие
инициацию
цветения

Влияние различных факторов на инициацию цветения



Открытие фотопериодизма у растений:



16:00

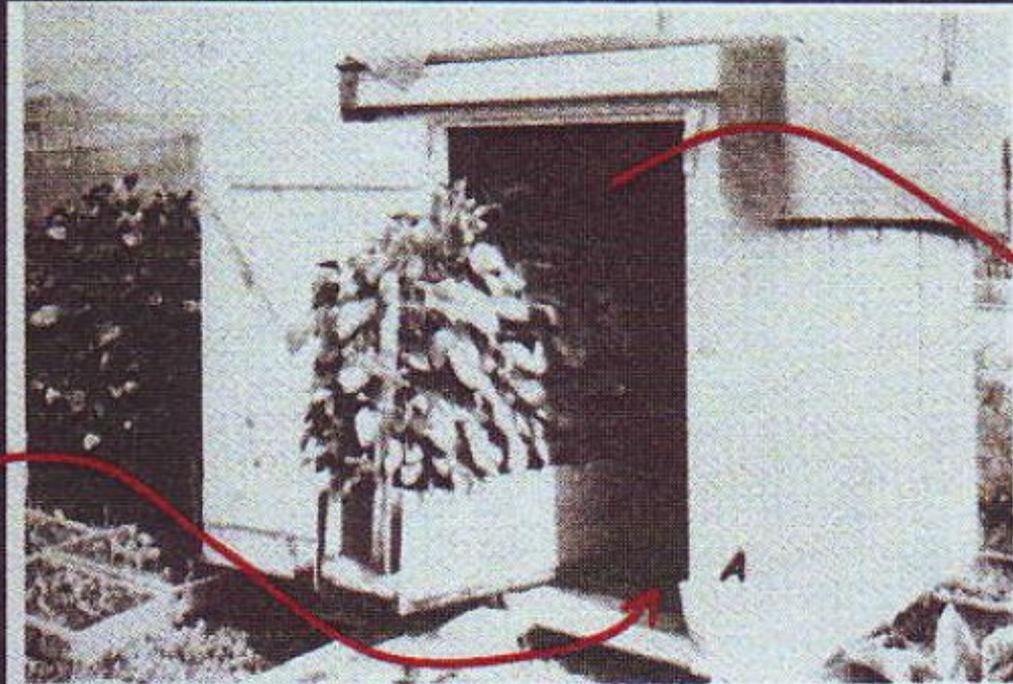


Figure 1. Allard's "doghouse," used to impose short days on soybeans and tobacco in 1918.



9:00



Garner & Allard 1920

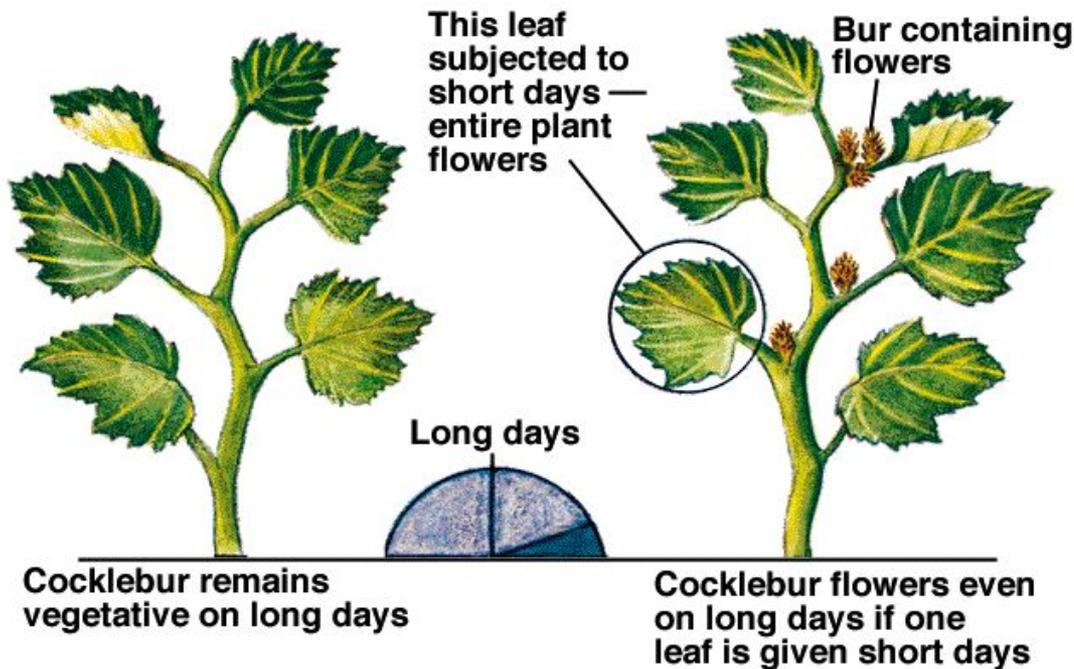
Гипотеза «флоригена»



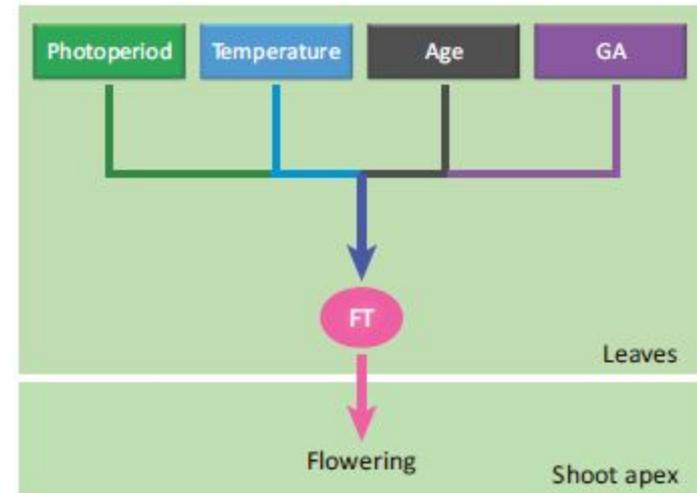
Флориген - гормон цветения, термин предложен М. Х. Чайлахяном, 1936

Гипотеза: флориген синтезируется в листьях и перемещается в апекс. Его синтез регулируется светом.

Опыты Чайлахяна с дурнушником (*Xanthium strumarium*)

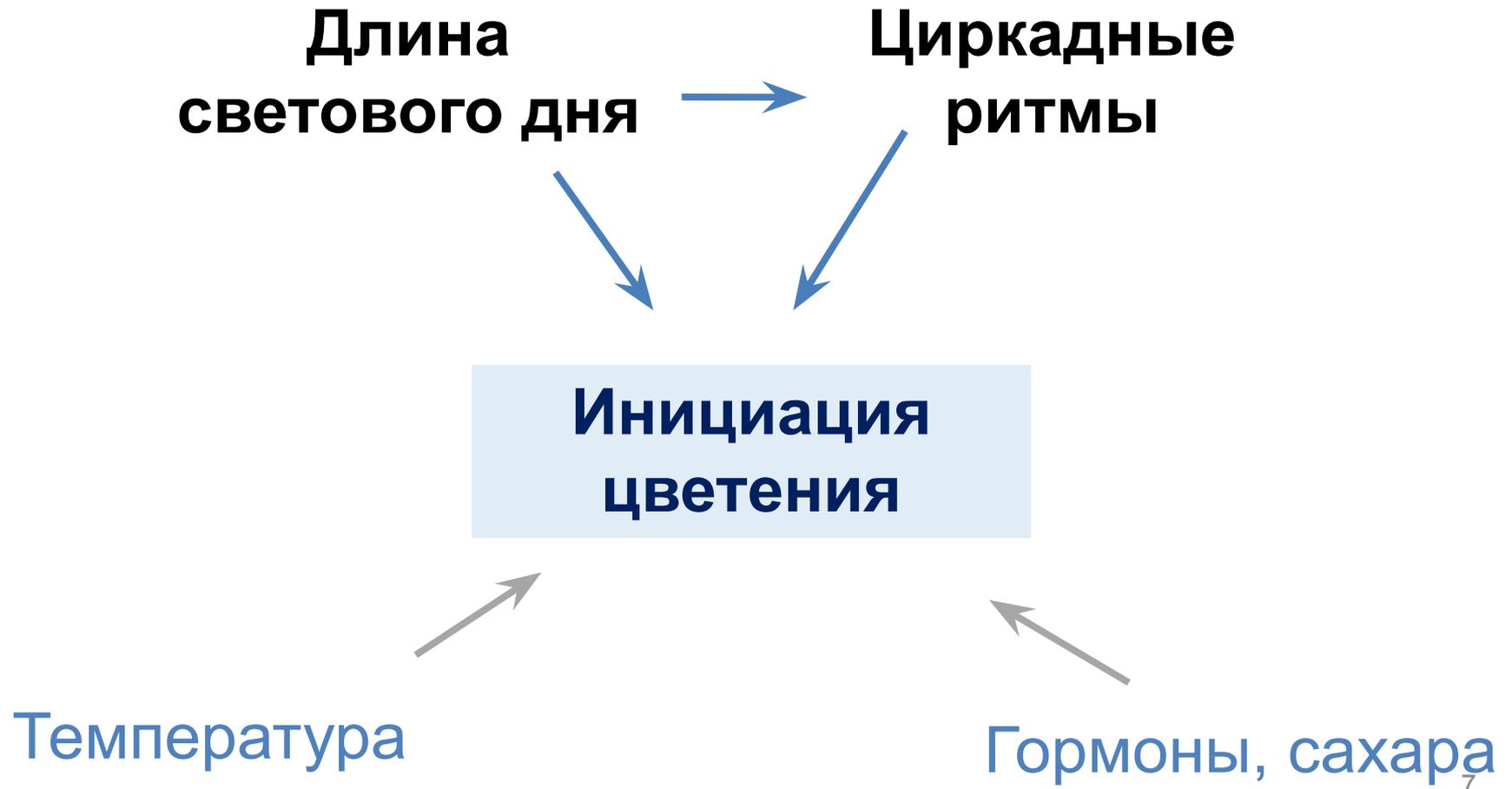


Современные представления: флориген (FT) – центральный регулятор ВСЕХ путей контроля цветения

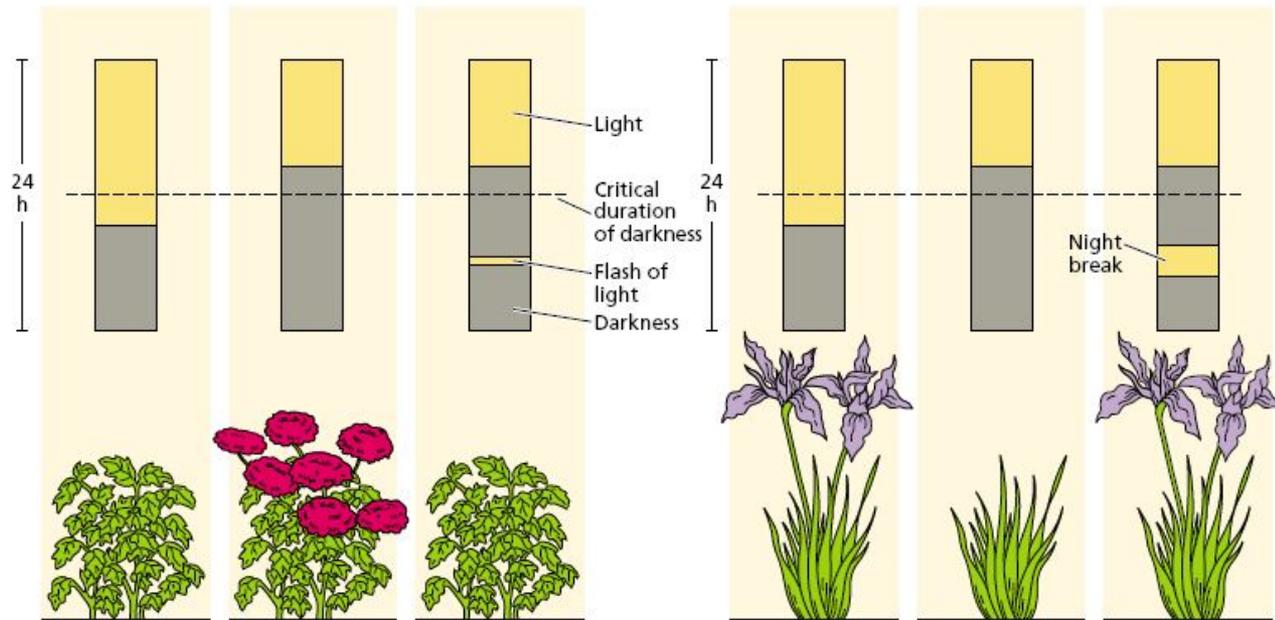


TRENDS in Plant Science

Влияние различных факторов на инициацию цветения



Классификация растений в зависимости от их фотопериодической реакции

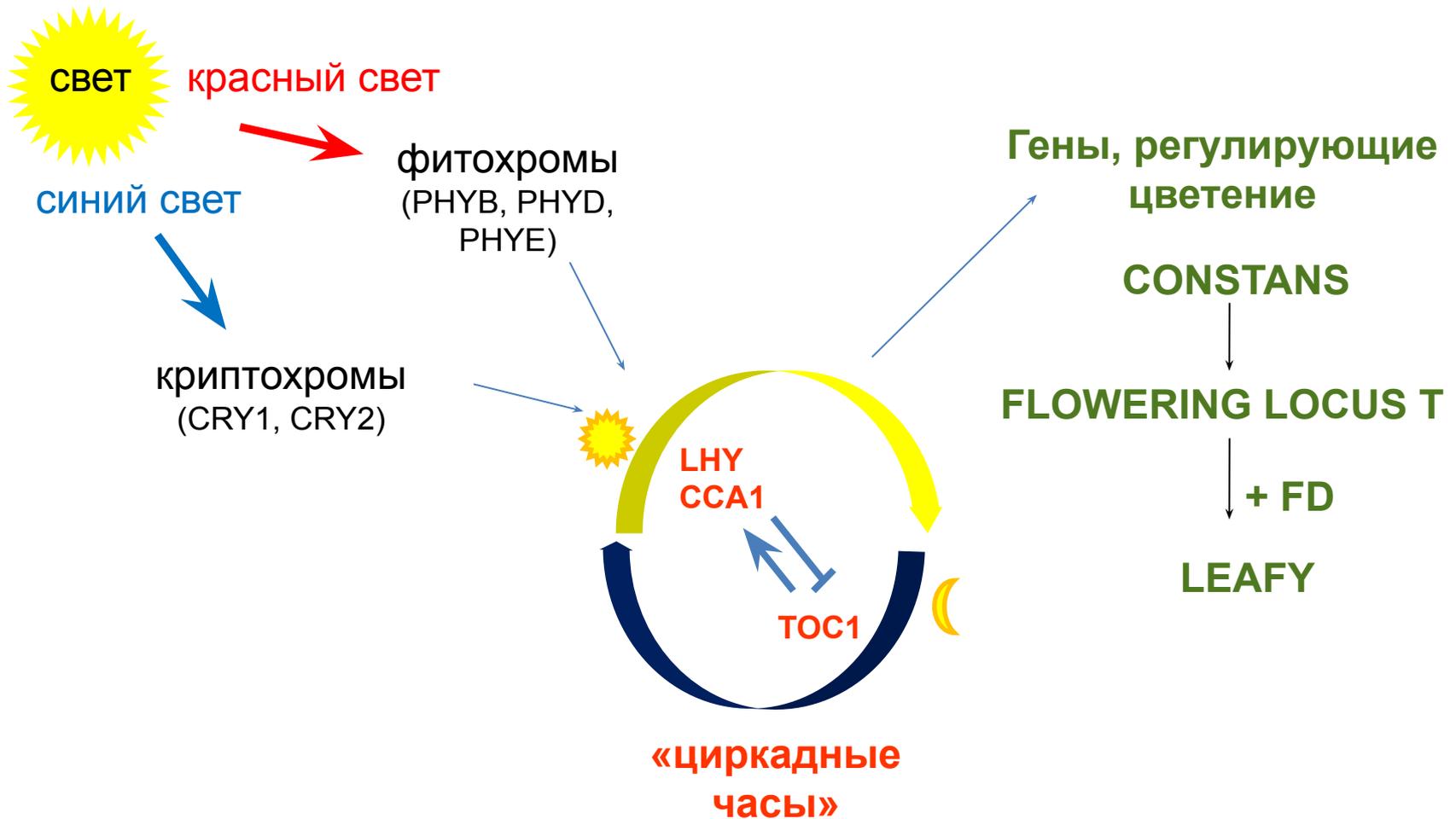


1. Растения короткого дня
(кукуруза, рис и др.)

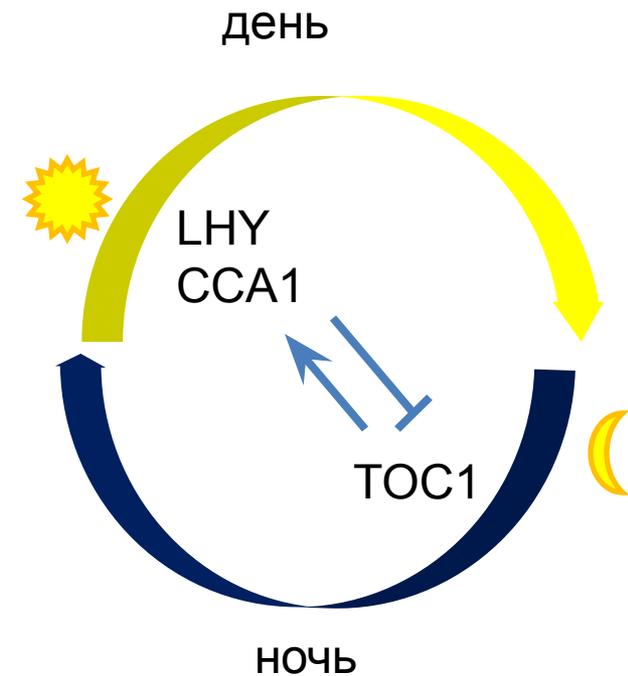
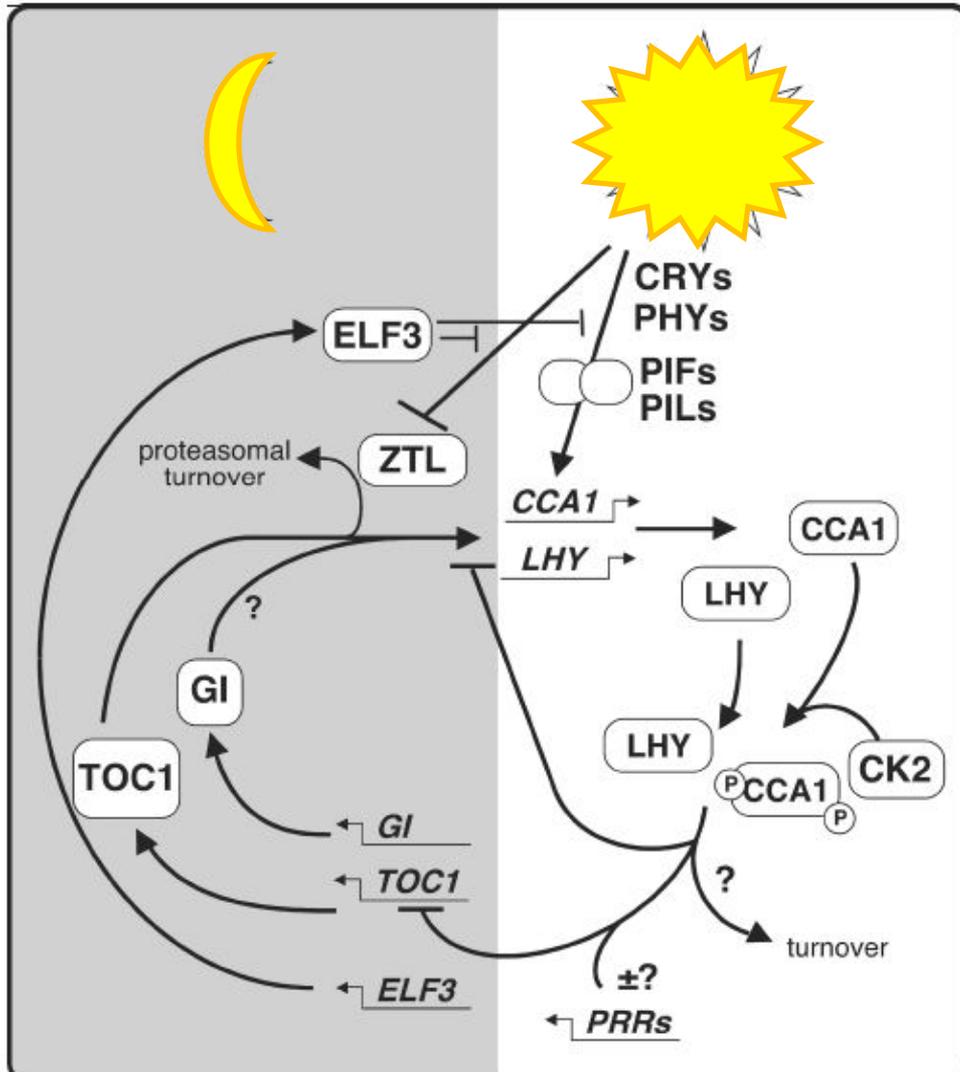
2. Растения длинного дня
(арабидопсис, пшеница,
овес, рожь и др.)

3. «Нейтральнoдневные» растения

Фотопериодическая регуляция инициации цветения



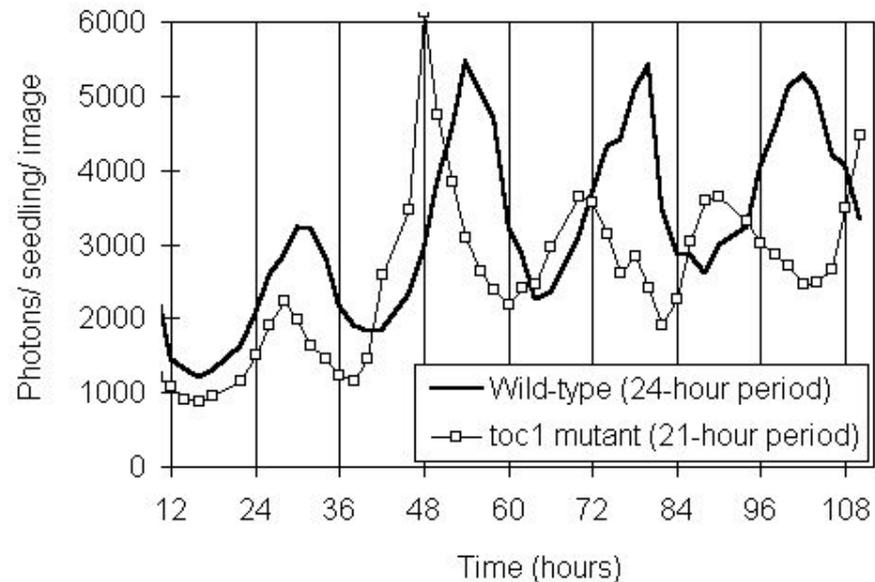
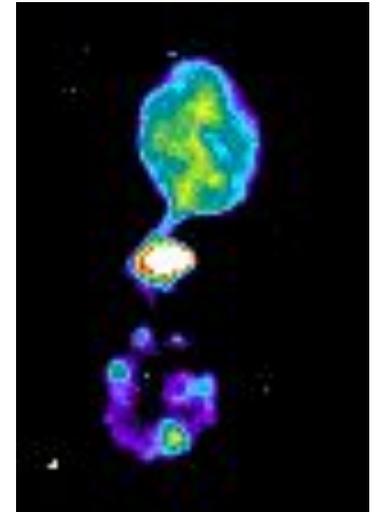
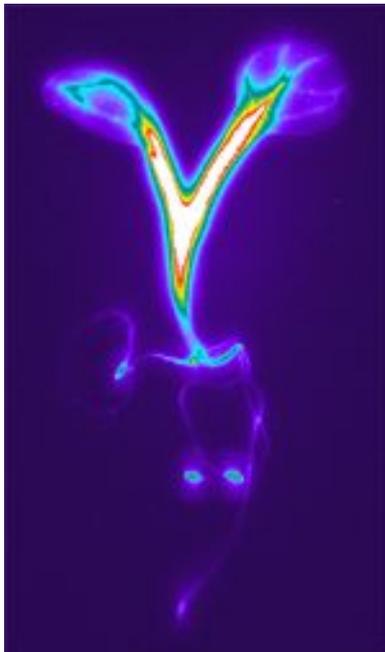
Основные компоненты «циркадных часов» растений



LHY – LATE ELONGATED HYPOCOTYL
CCA1 – CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED
TOC1 – TIMING OF CAB1

«Циркадные ритмы» растений

Активность люциферазы у растений
CAB::LUC (CAB - chlorophyll a/b-binding protein)



Регуляция инициации цветения: модель «совпадения» (coincidence model)

Гены,
регулируемые
циркадными
часами



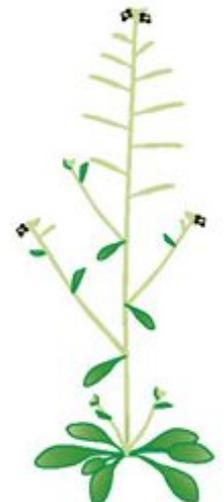
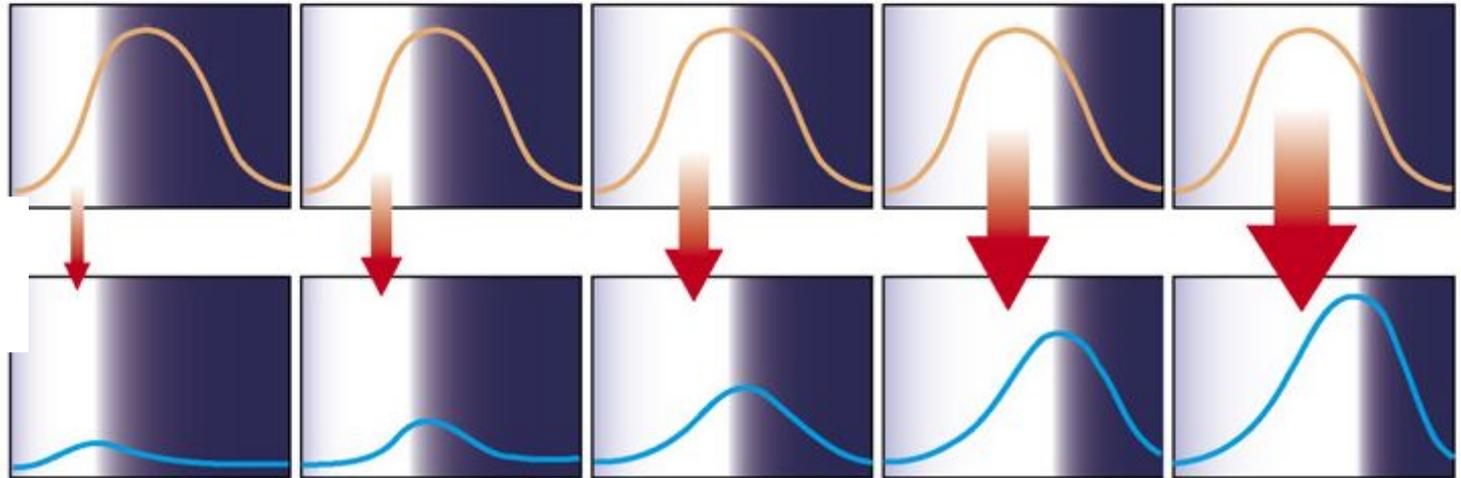
Их продукт – ТФ,
активируемый
светом



Гены,
регулирующие
цветение

короткий день

длинный день



Ген **CONSTANS (CO)** в регуляции инициации цветения

Фенотип мутантов **co** и трансгенных растений со сверхэкспрессией **CO**



WT

co



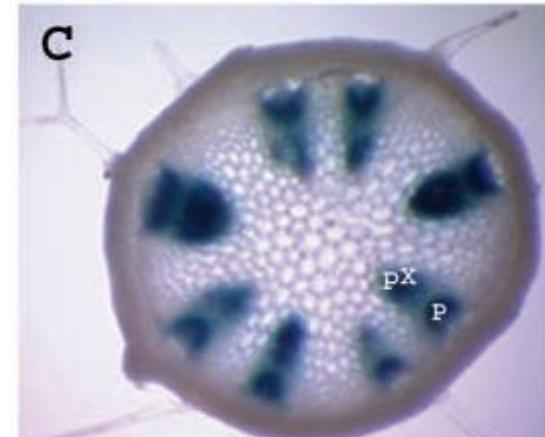
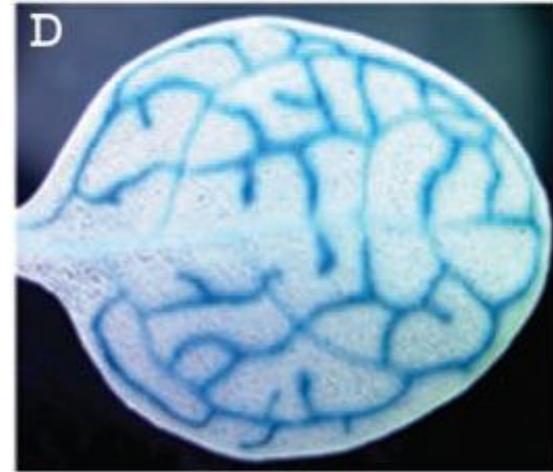
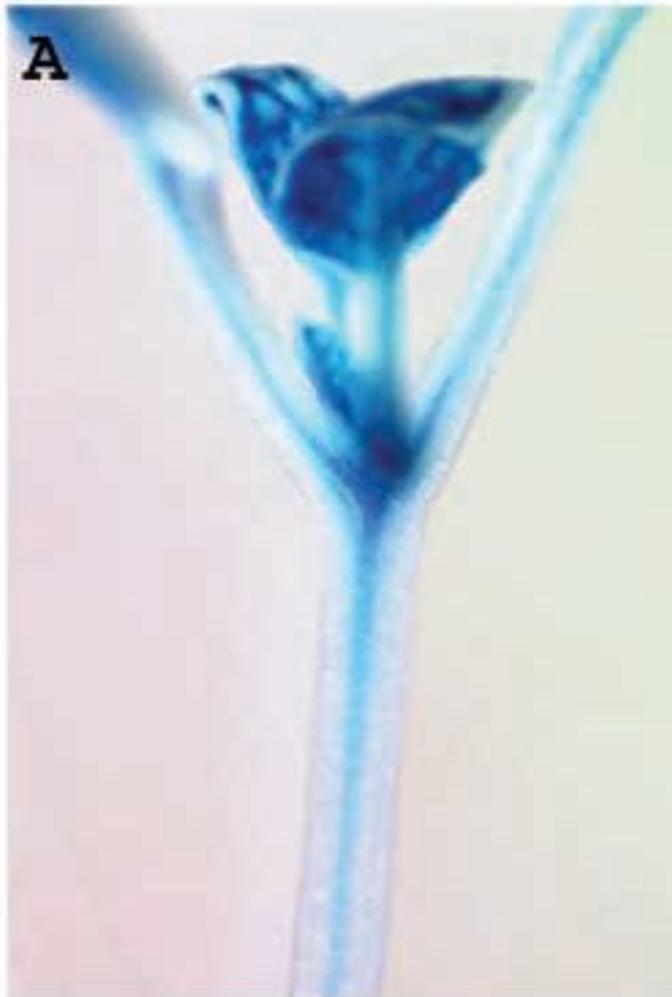
WT



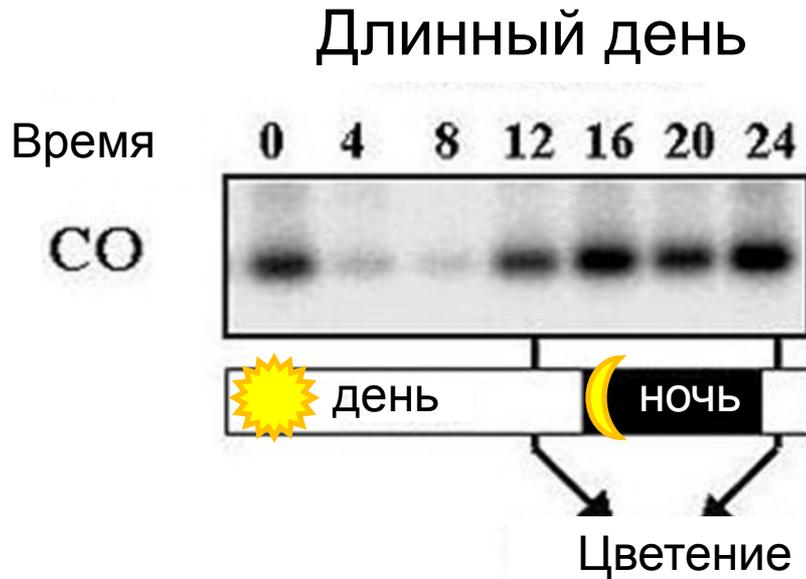
35S::CO

Ген **CO** – кодирует предполагаемый ТФ с доменами «цинковые пальцы»

Экспрессия гена **CONSTANS** (**CO::GUS**) в проводящих тканях

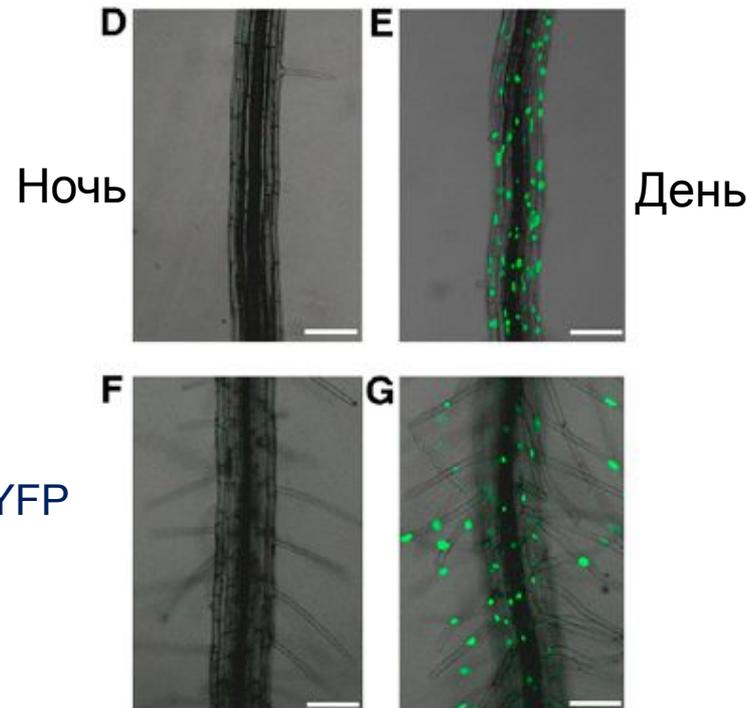


Динамика экспрессии гена **CONSTANS** в течение суток

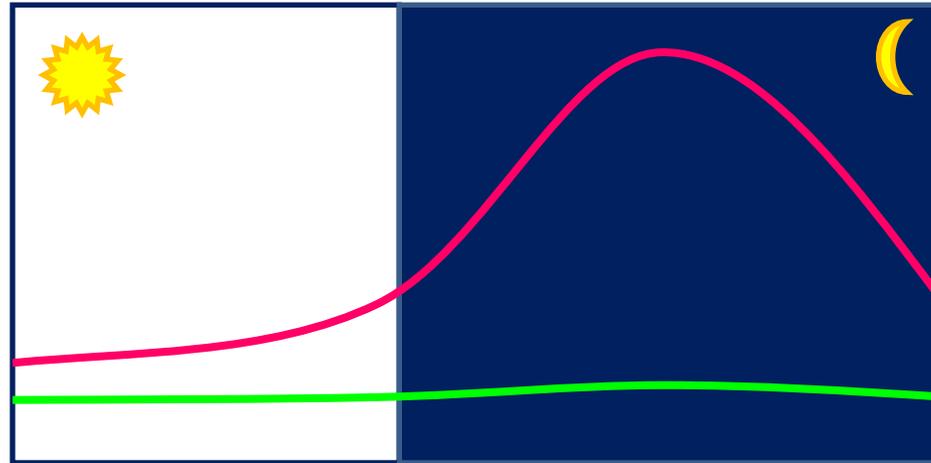
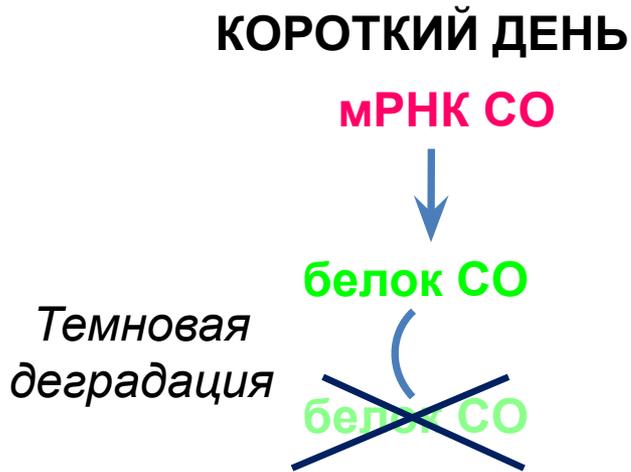


**Нестабильность белка
CO в темноте**

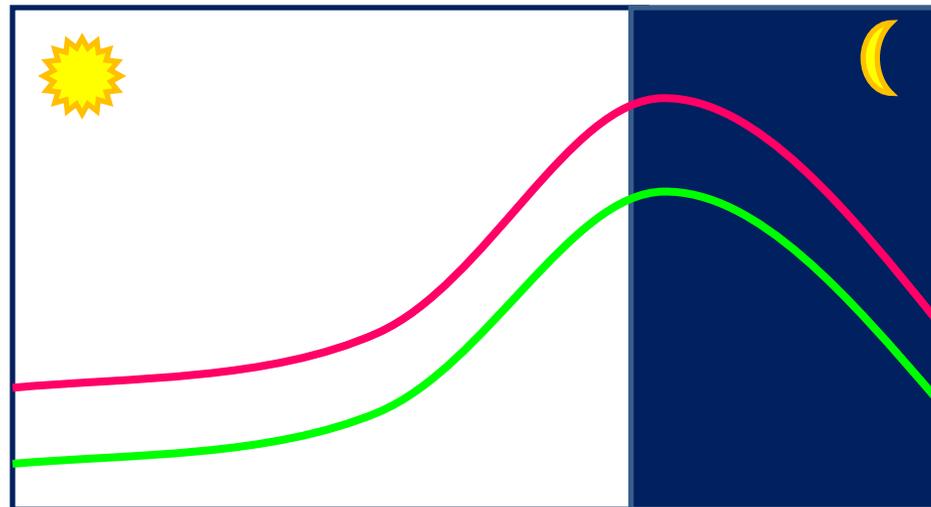
Экспрессия CO::CO-YFP



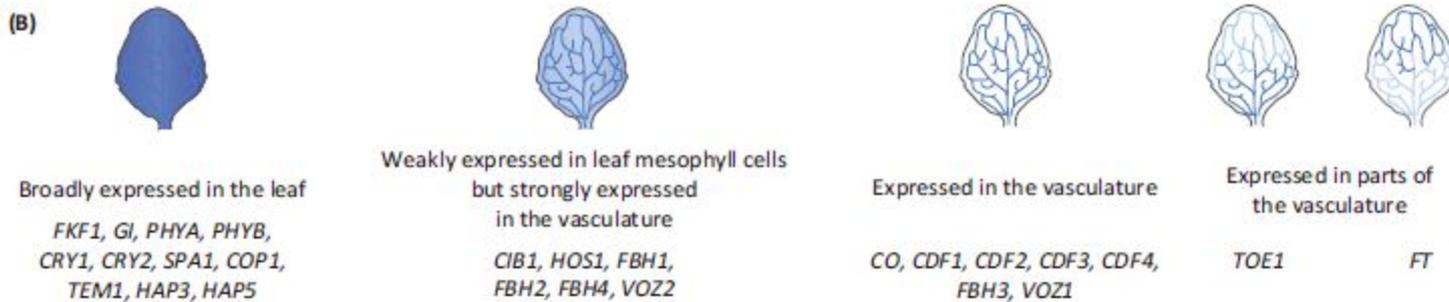
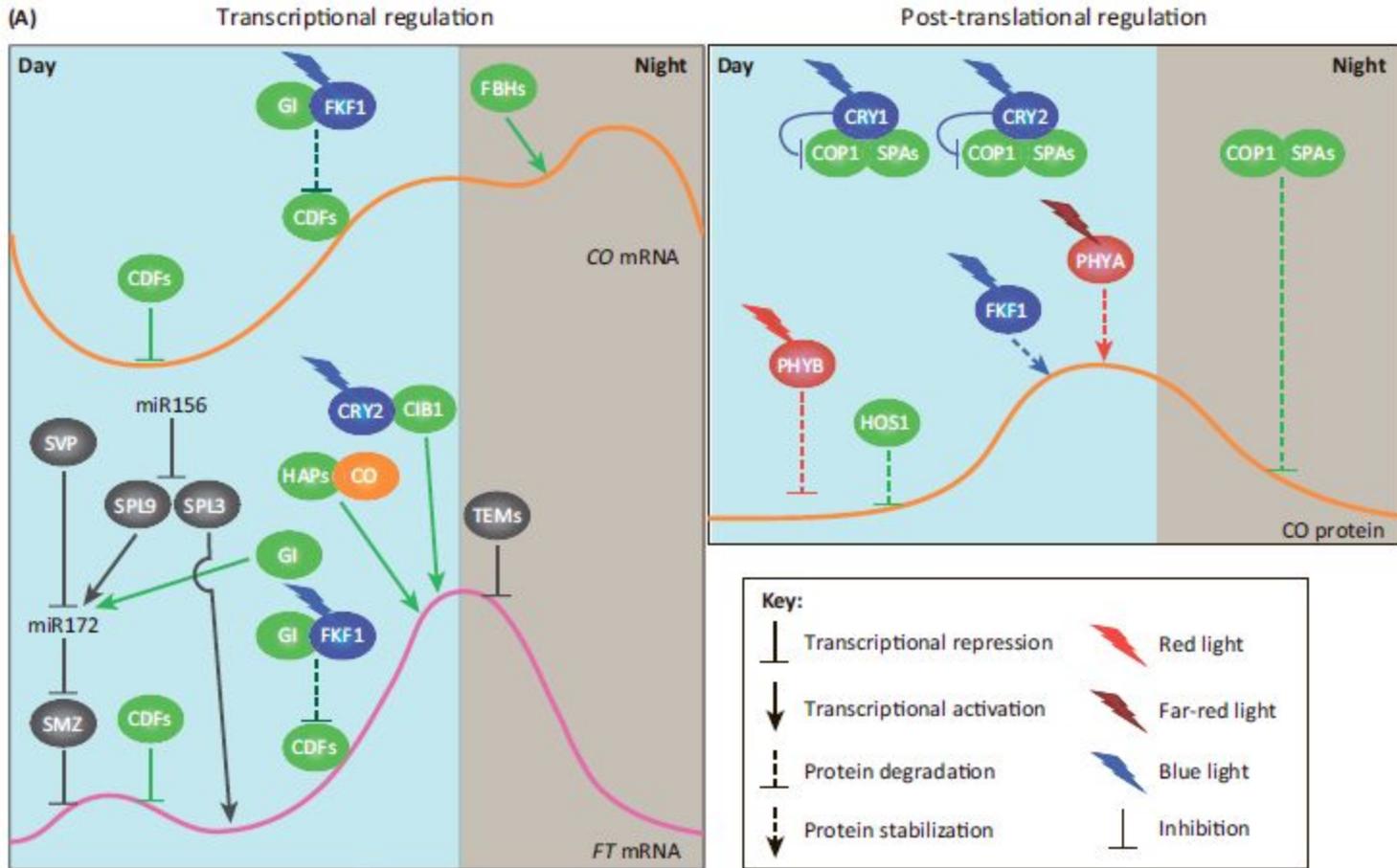
Фотопериодическая регуляция активности CO



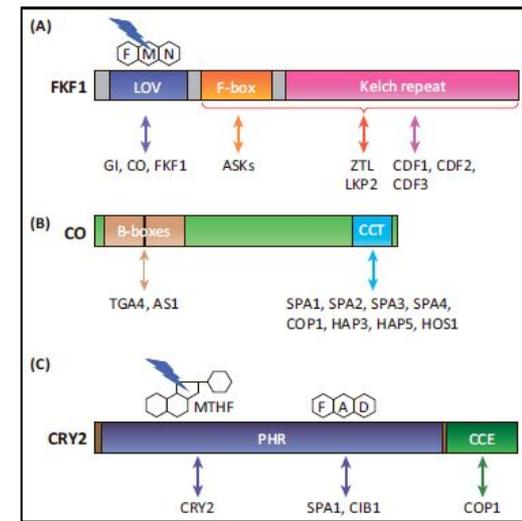
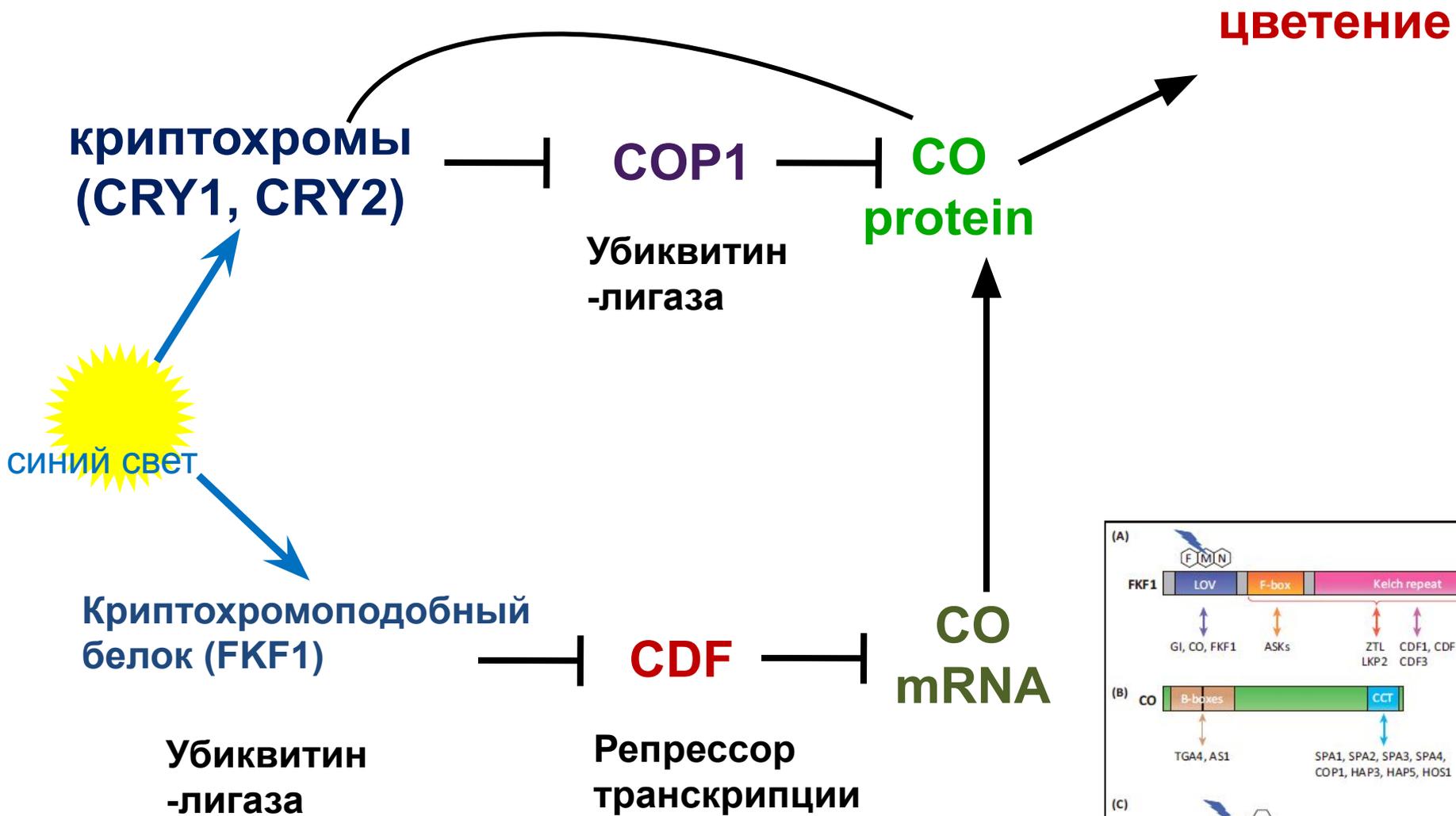
ДЛИННЫЙ ДЕНЬ



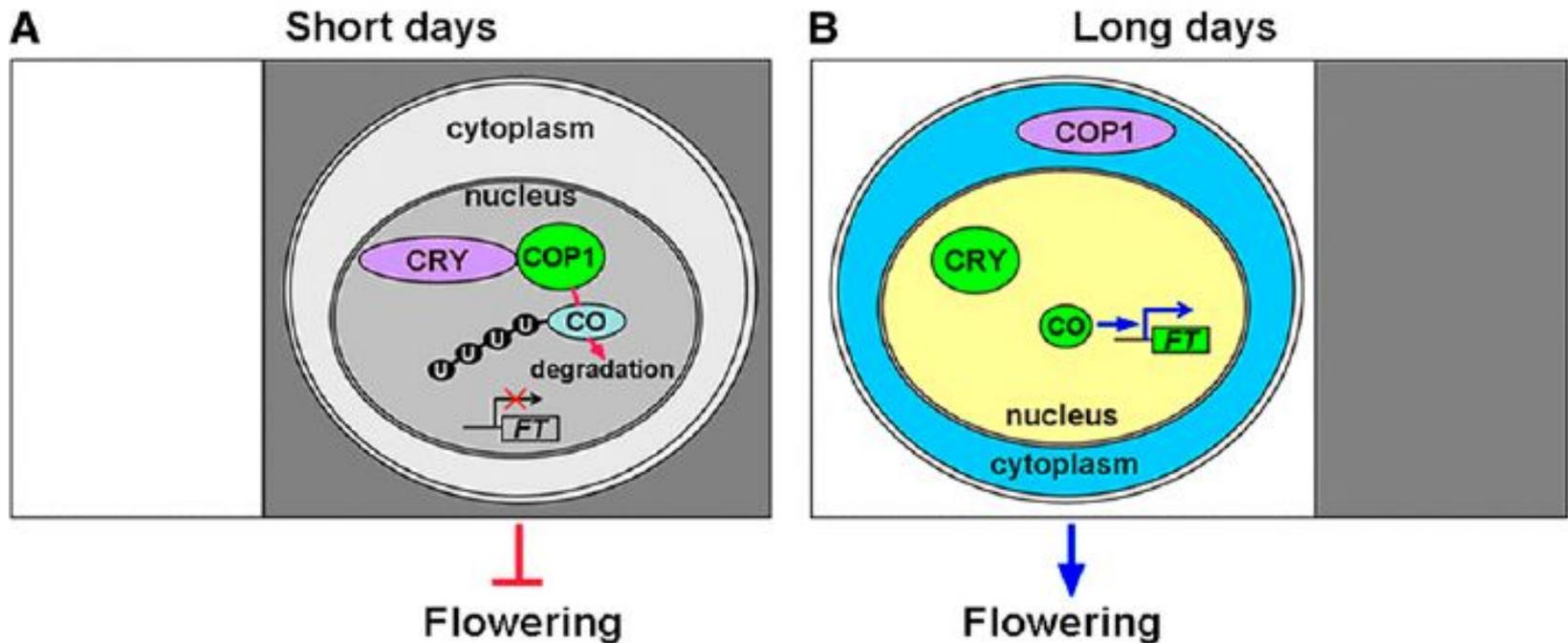
Фотопериодическая регуляция активности CO



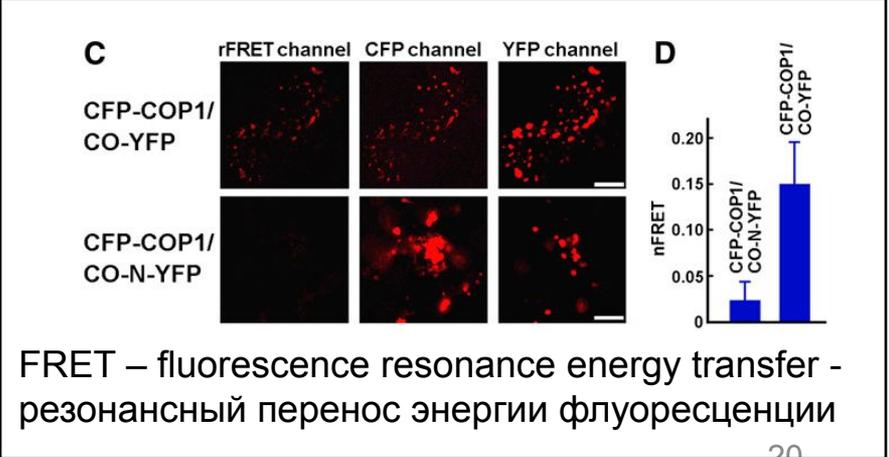
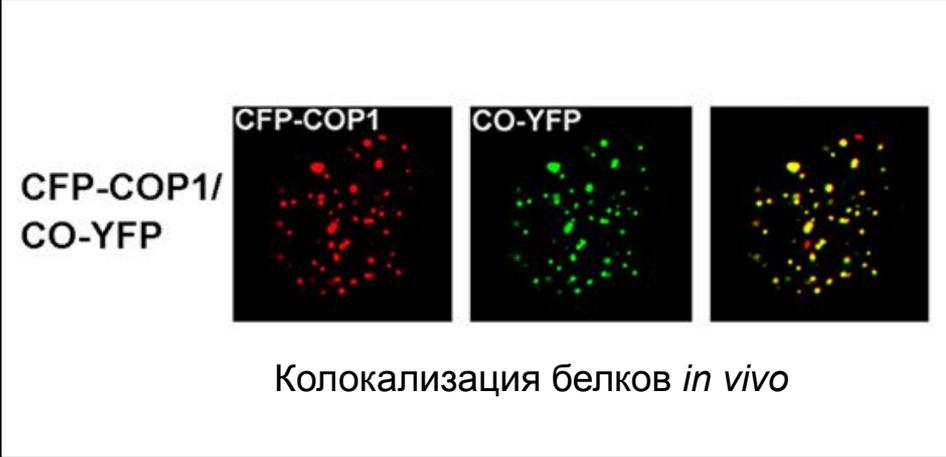
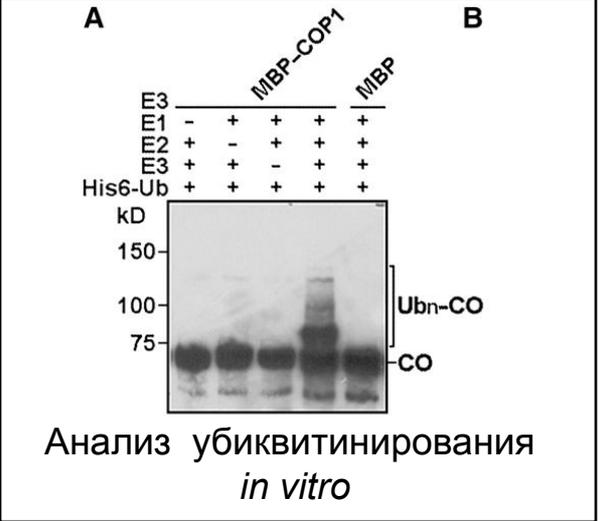
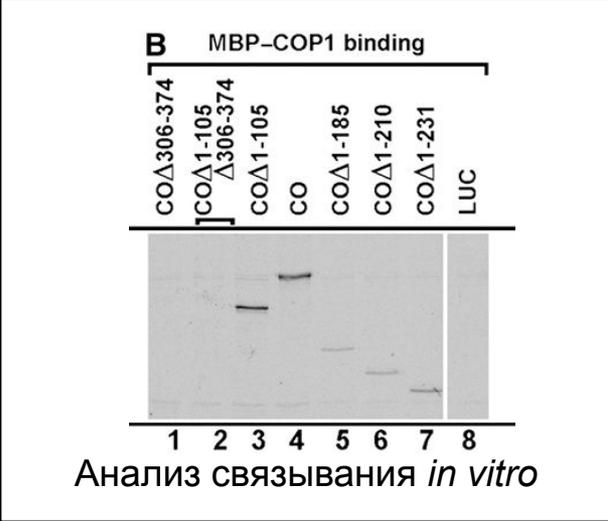
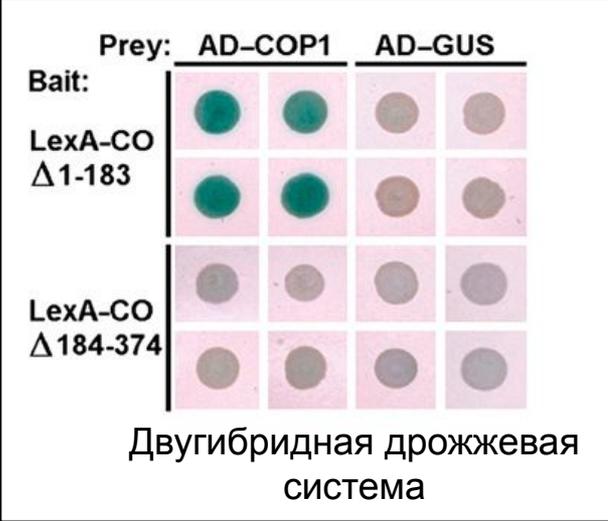
Фотопериодическая регуляция активности CO



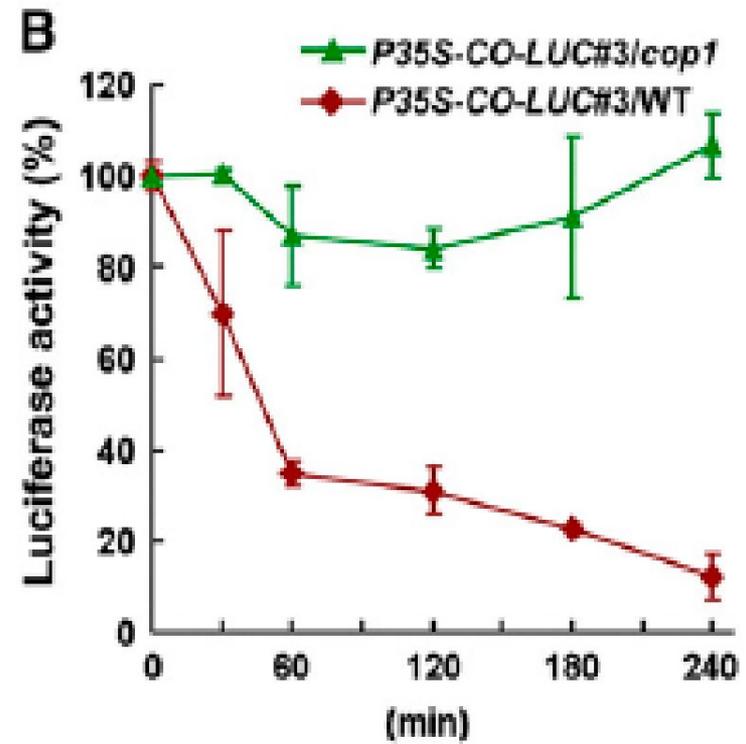
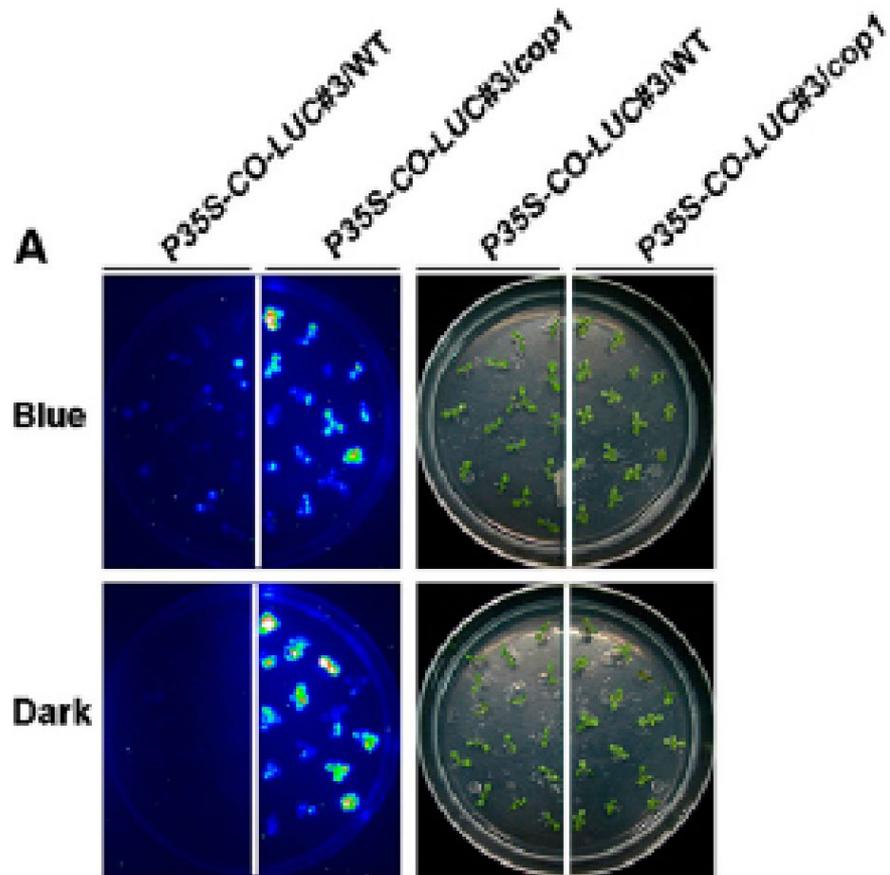
COP1 опосредует убиквитин-зависимую деградацию белка CO



COP1 опосредует убиквитин-зависимую деградацию белка CO: исследование взаимодействия белков COP1 и CO

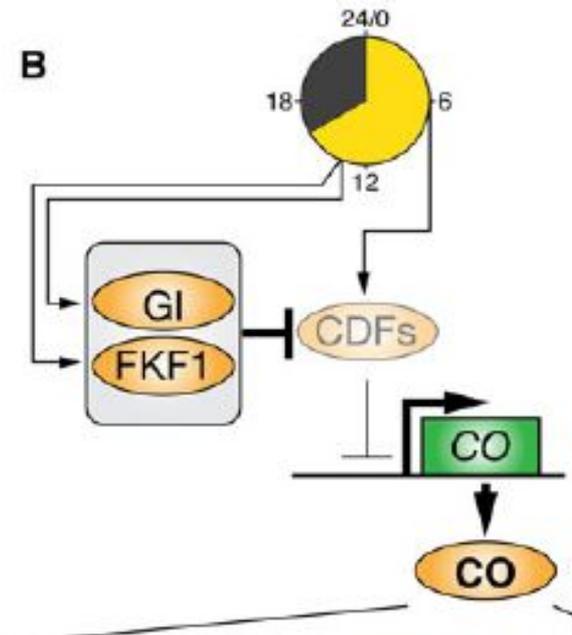
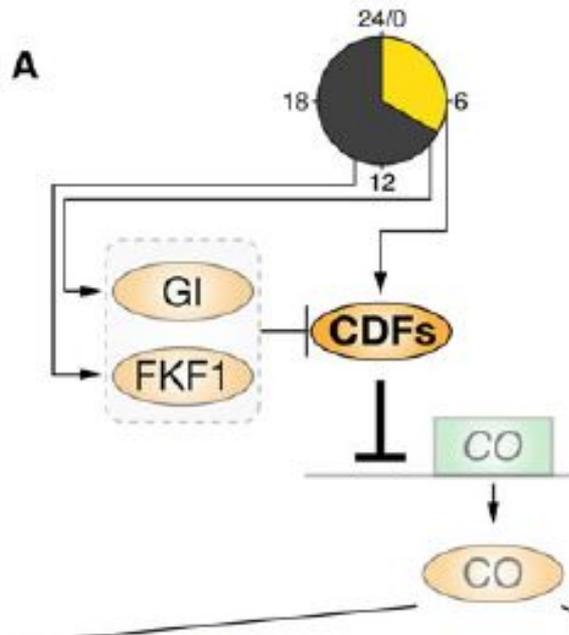


COP1 опосредует темновую деградацию белка CO

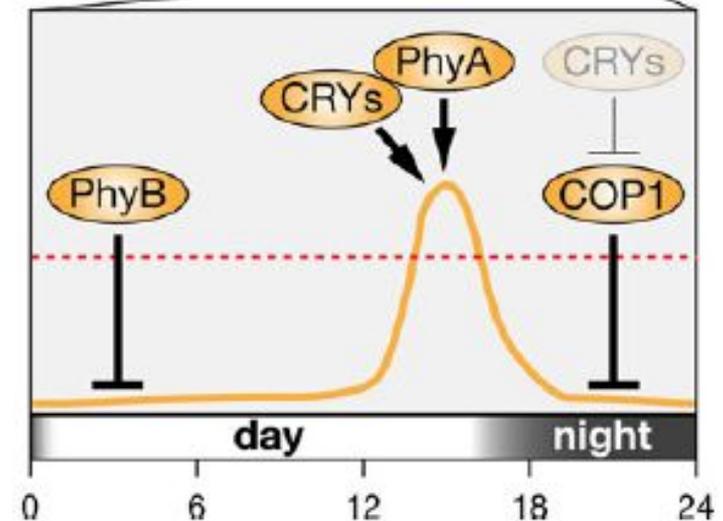
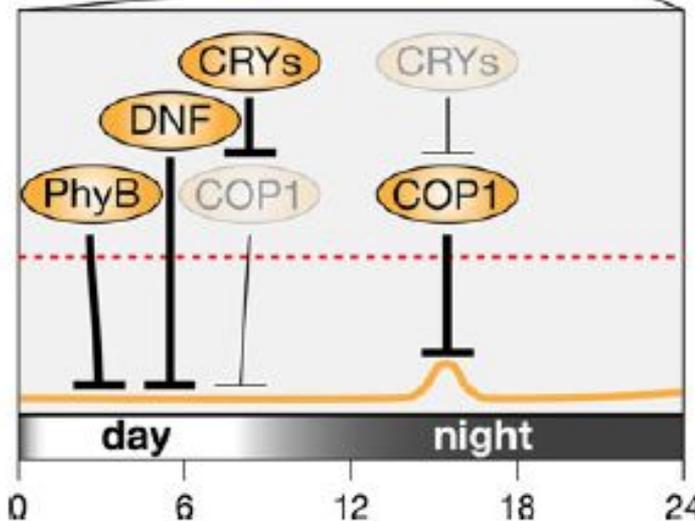


Молекулярные механизмы «гипотезы совпадения»

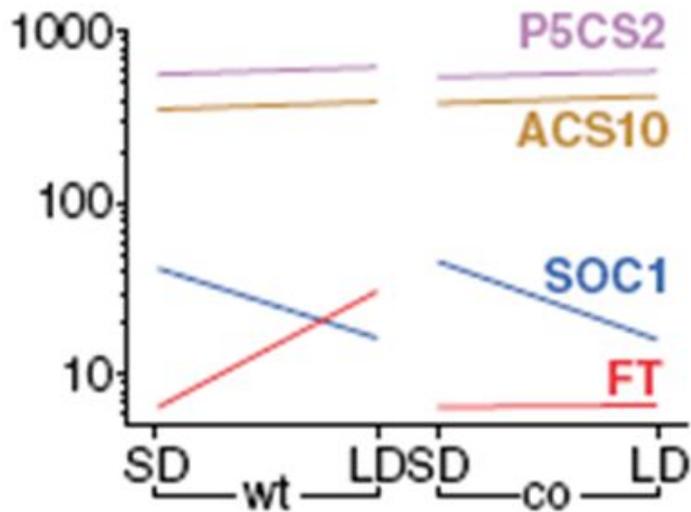
Регуляция на уровне мРНК CO:
FKF1 (FLAVIN-BINDING KELCH REPEAT FBOX1) – Fбох-содержащий криптохром-подобный белок
GI (GIGANTEA) – активатор FKF1
CDF (CYCLING DOF FACTORS) – репрессоры транскрипции



Регуляция на уровне белка CO:
COP1 (CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENESIS 1) - Fбох-содержащий белок



Выявление мишеней **CONSTANS**



Анализ экспрессии генов у мутантов **co** показал изменение характера экспрессии гена **FT**



FLOWERING LOCUS T (FT) – предполагаемая мишень **CO**

FT - белок 20 кДа, имеет гомологию с Raf-киназным ингибитором или фосфатидилэтаноламин связывающим белком

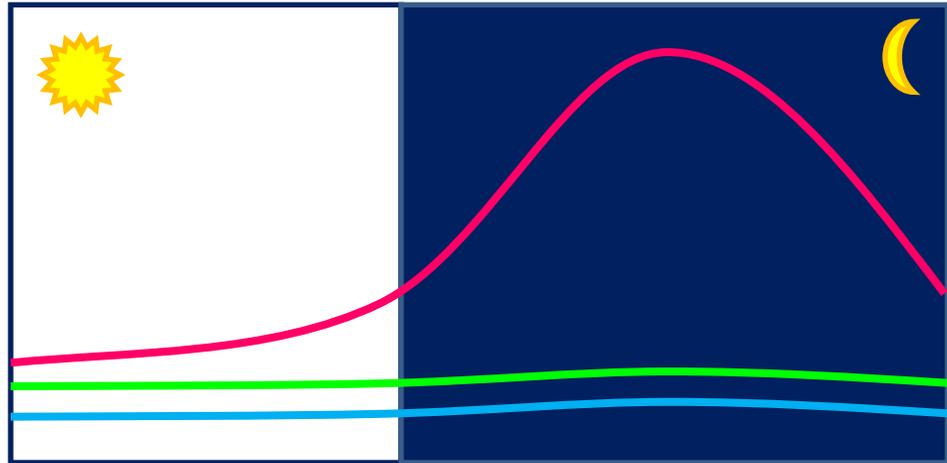
FT – FLOWER LOCUS T - мишень CONSTANS

КОРОТКИЙ ДЕНЬ

мРНК CO

белок CO

мРНК FT

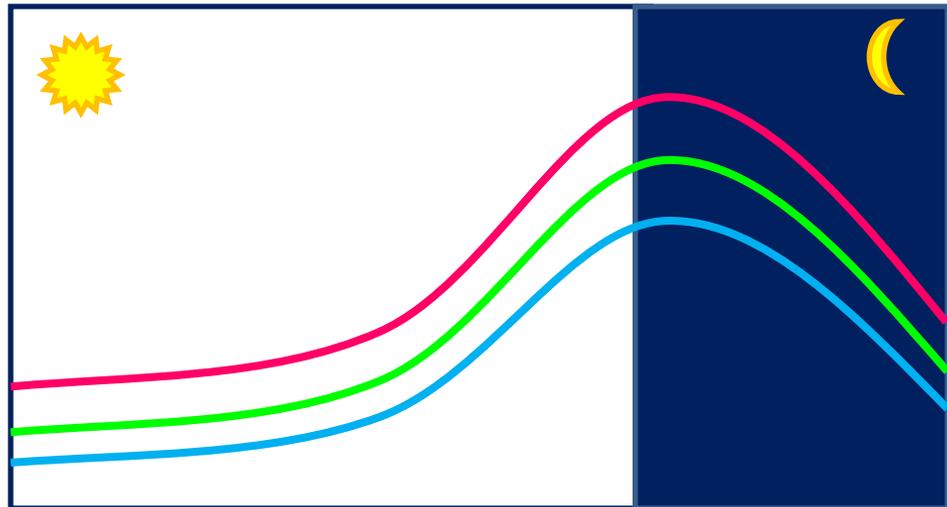


ДЛИННЫЙ ДЕНЬ

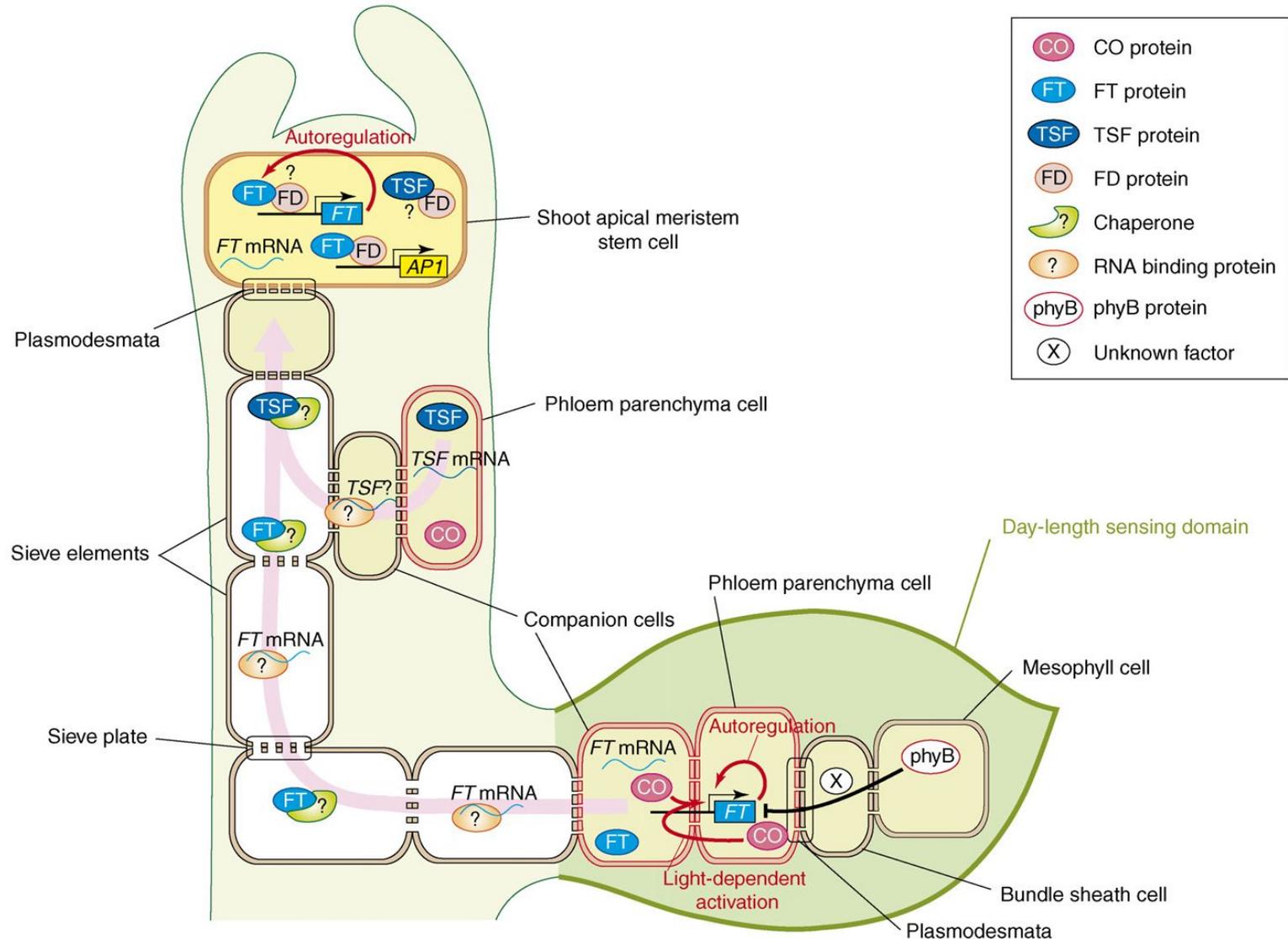
мРНК CO

белок CO

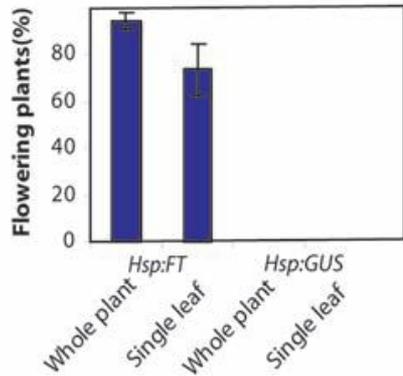
мРНК FT



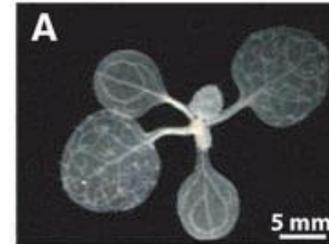
Продукт гена FT (мРНК, белок-?) – транспортируется из листа в апекс побега, где инициирует цветение



Продукт гена FT (мРНК, белок-?) – транспортируется из листа в апекс побега, где инициирует цветение

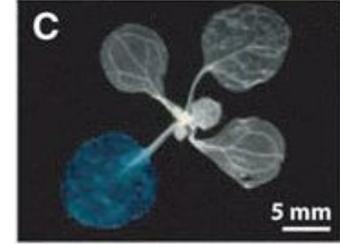


Активация
экспрессии FT
(HSP::FT)
↓
цветение



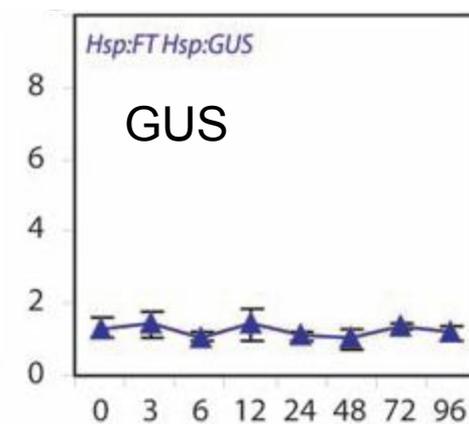
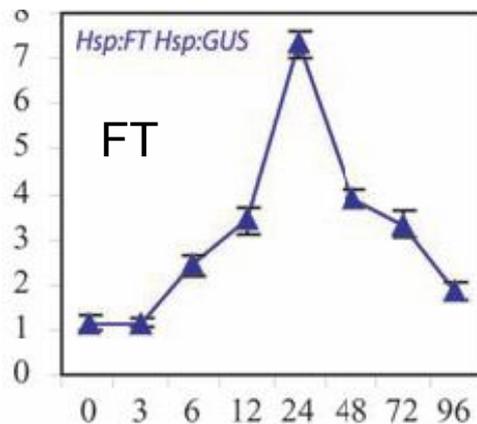
Hsp::GUS

тепловой
шок



Hsp::GUS

Содержание транскриптов FT и GUS (контроль) в апексе побега после индукции конструкций Hsp::FT и Hsp::GUS тепловым шоком (ТШ)

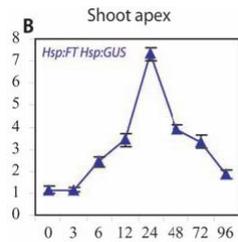


ТШ↑

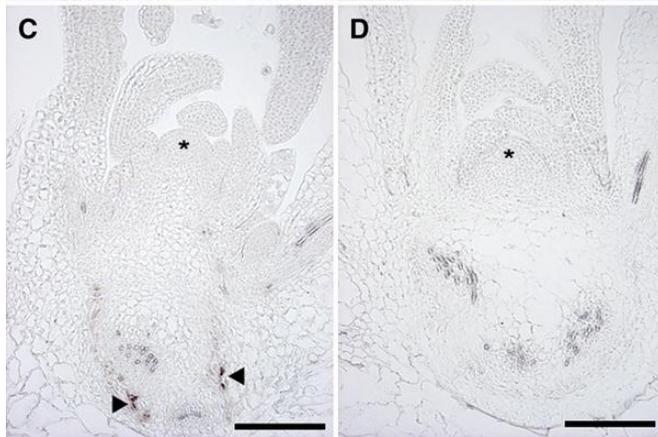
ТШ↑

апекс побега
↗
мРНК FT
белок FT
ЛИСТ

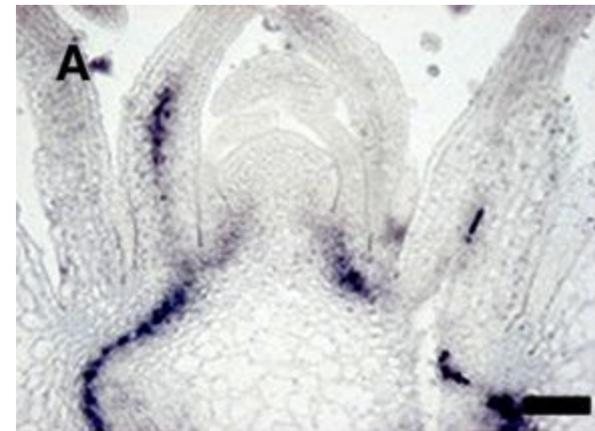
Белок FT транспортируется из листа в апекс побега, где инициирует цветение



В работе Huang et al. *Science* 2005 – некорректный анализ данных по содержанию транскриптов FT в апексе (Real-time PCR)

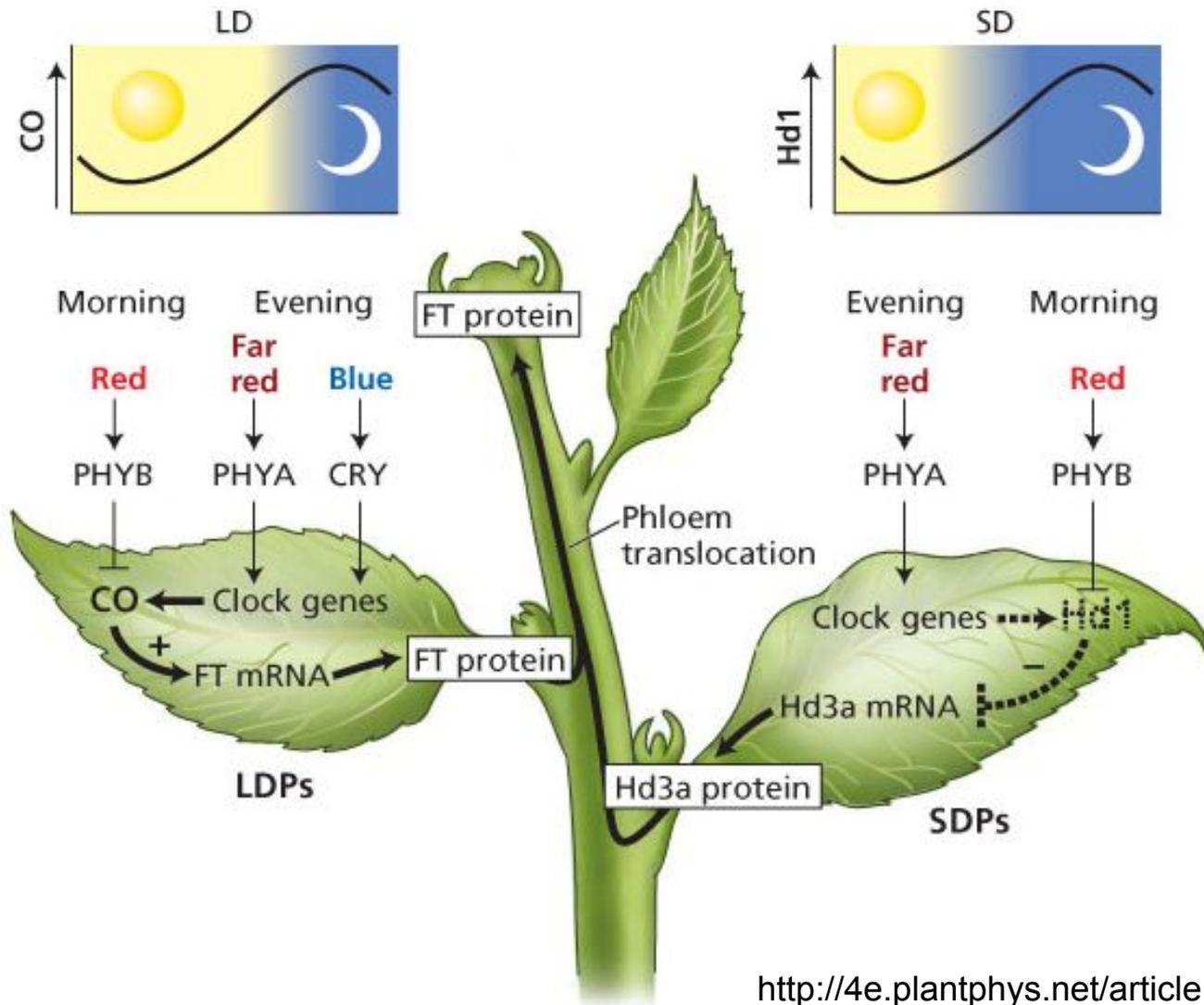


гибридизация РНК *in situ*: отсутствие транскриптов FT в апексе побега

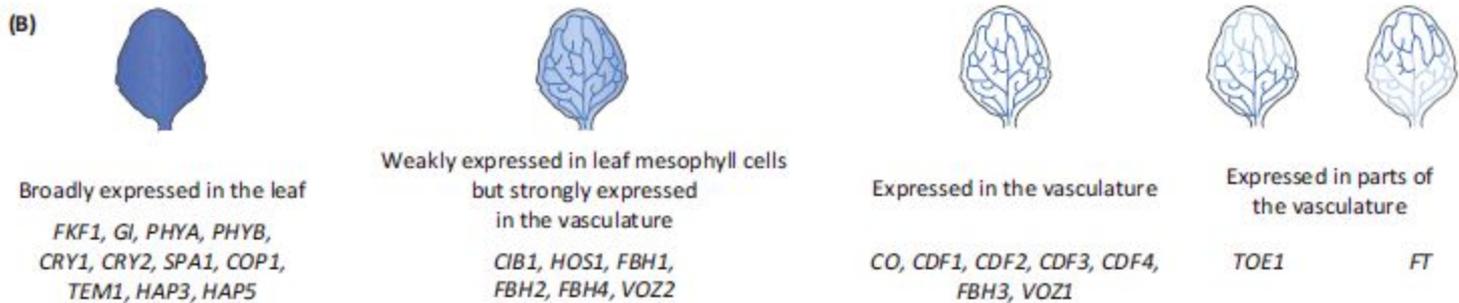
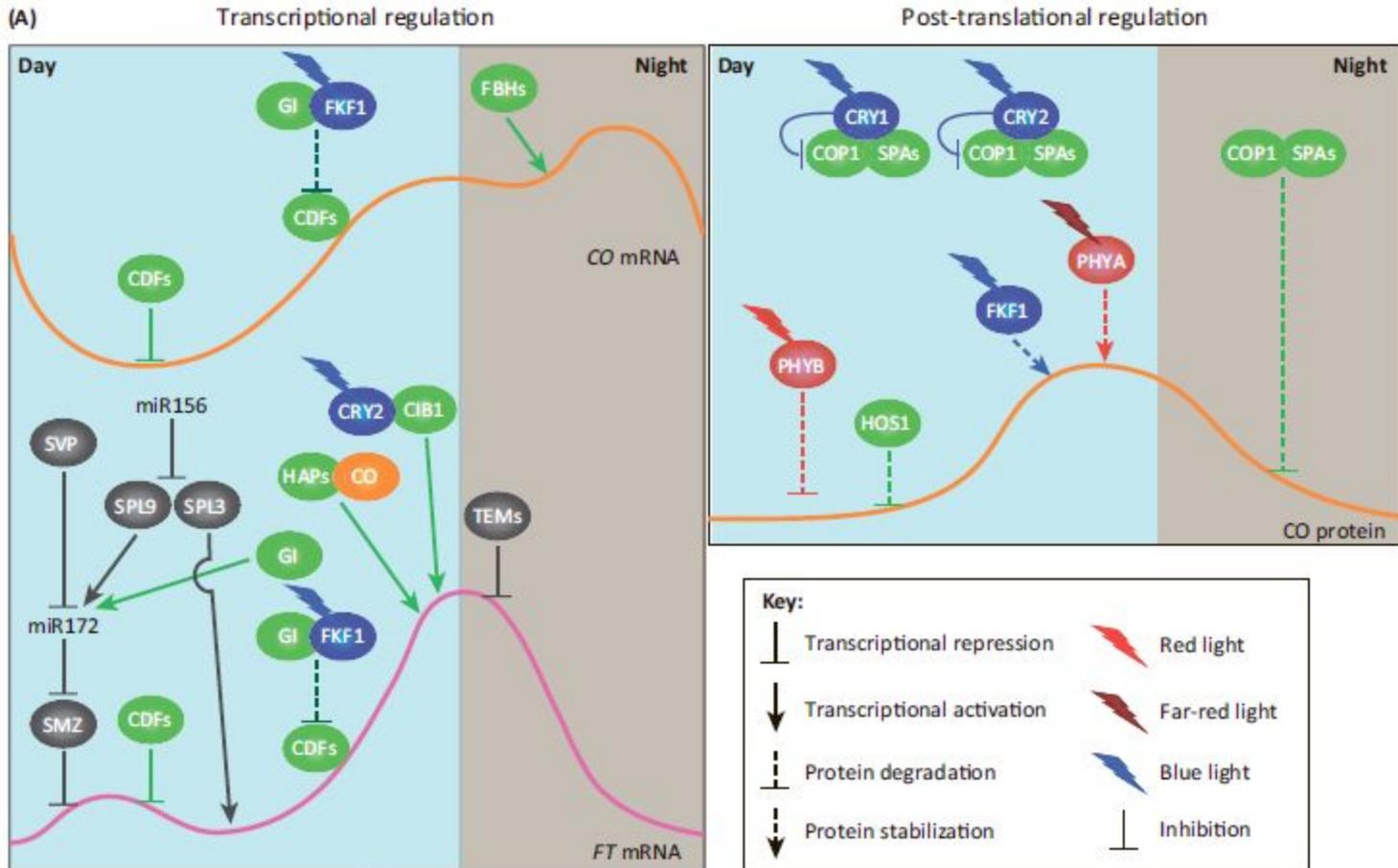


Передвижение белка Мус FT в апекс побега

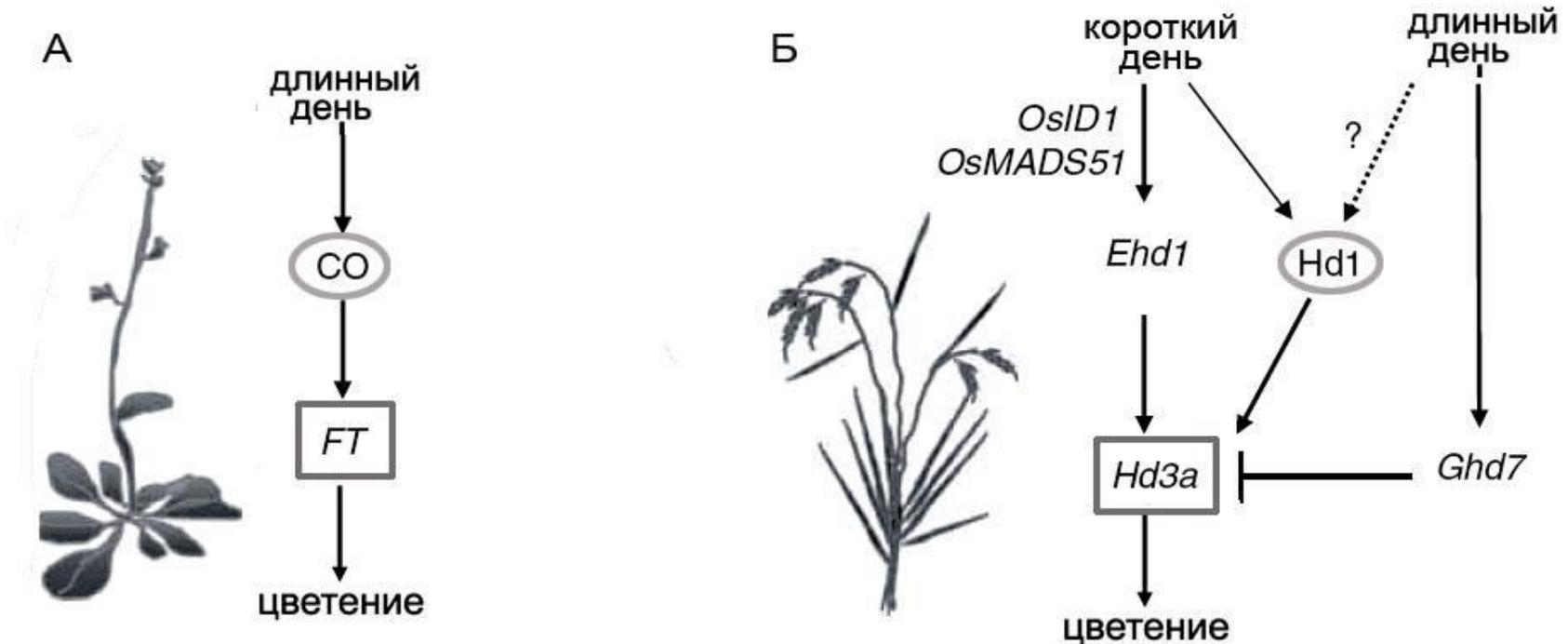
Фотопериодическая регуляция цветения у растений длинного дня и растений короткого дня



Фотопериодическая регуляция активности CO и FT



Основные гены, контролирующие фотопериодическую индукцию цветения у длиннодневного растения *Arabidopsis thaliana* (А) и короткодневного растения *Oryza sativa* (Б)



Гены – ортологи выделены одинаковыми фигурами (по Greenup et al., 2009 с изменениями)

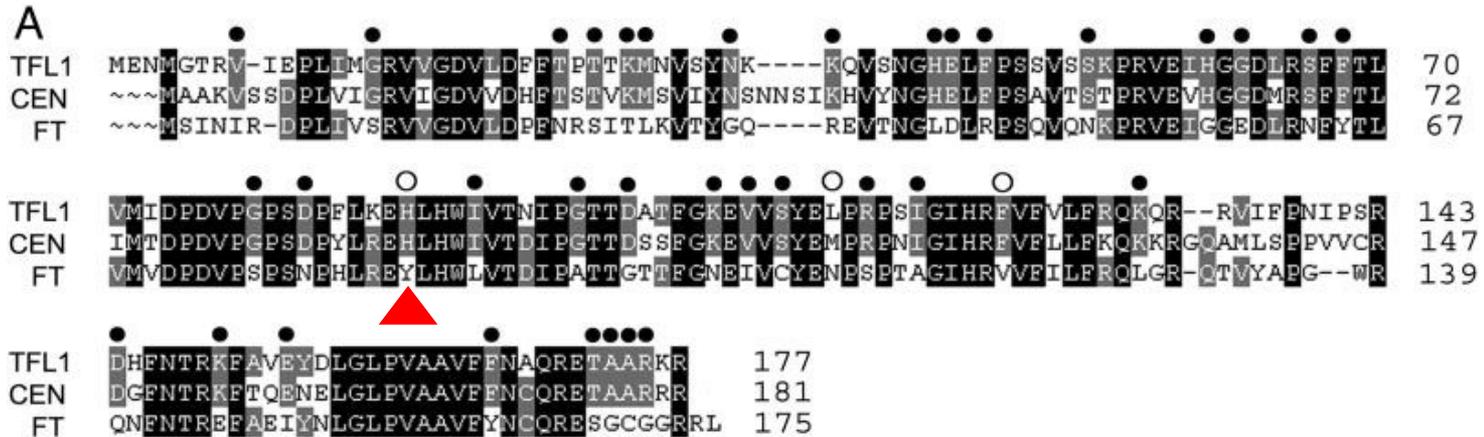
Ген TFL (Terminal Flower) арабидопсиса



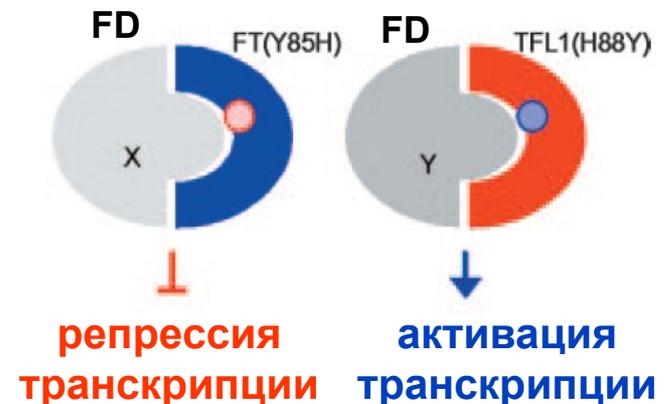
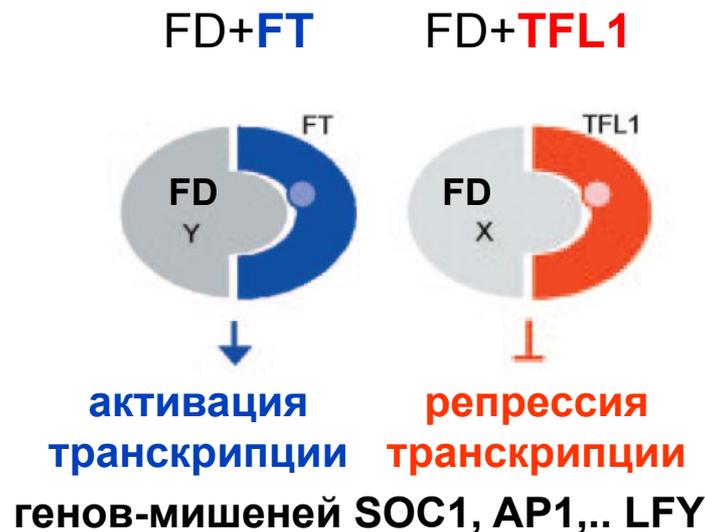
Продукт гена TFL – белок - **репрессор цветения**, на 60% сходный с FT

По функции - АНТИФЛОРИГЕН

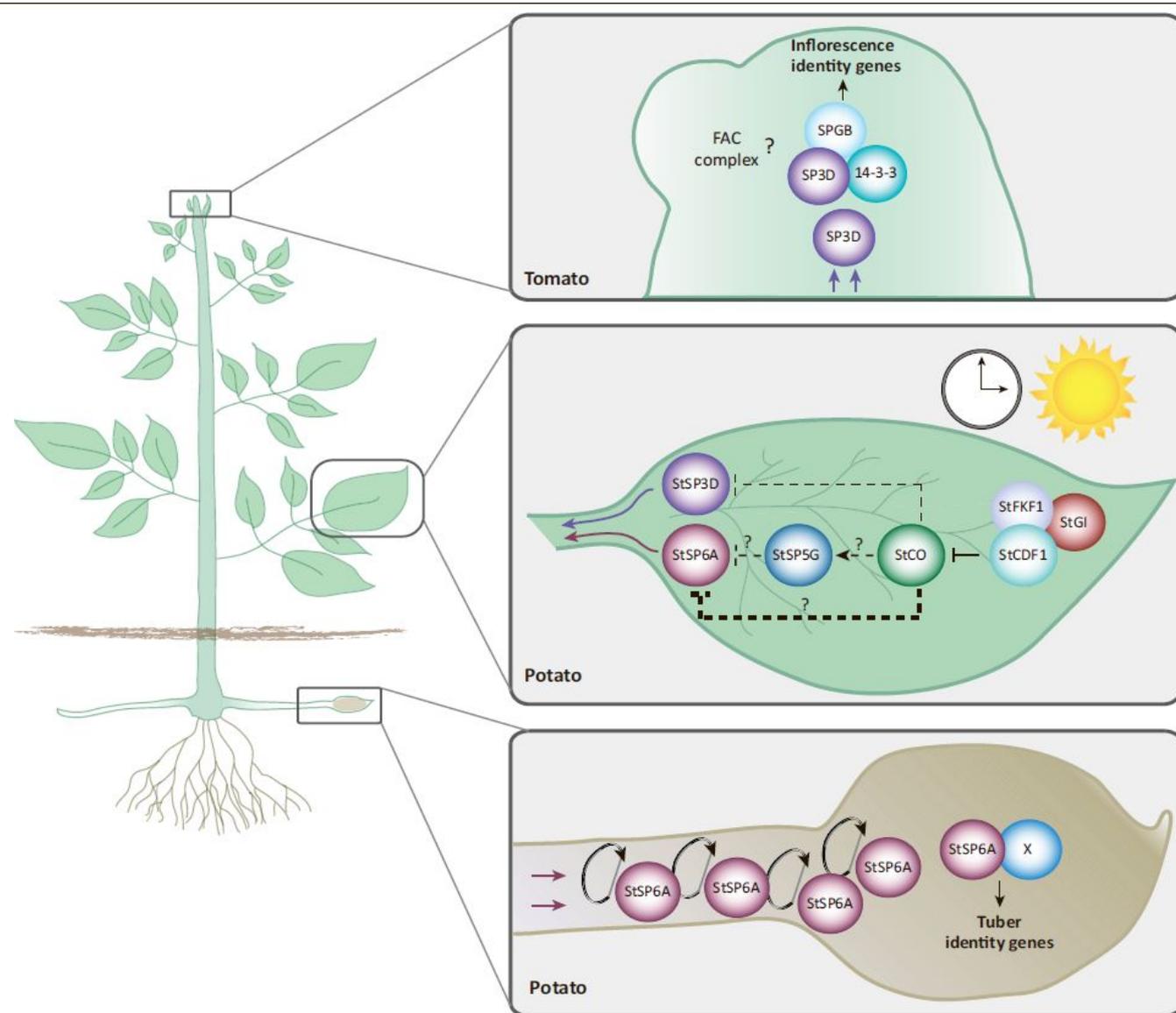
TFL1 – имеет 59% сходства с белком FT



Замена одной аминокислоты в **FT** и **TFL1** влияет на способность **FD** активировать/репрессировать транскрипцию генов-мишеней



Дополнительная функция FT – контроль образования клубней картофеля



Выявление мишеней FT:

Изучение влияния мутаций по различным генам, контролирующим инициацию цветения, на фенотип трансгенных растений **35S::FT**

Genotype*	No. of rosette leaves†	No. of cauline leaves†	N
<i>Experiment 1, LDs</i>			
Wild type (Col)	14.2 ± 2.2 (11–18)	3.0 ± 0.7 (2–4)	25
<i>fd-1</i>	23.1 ± 3.1 (19–29)	6.6 ± 1.2 (4–8)	14
35S::FT (YK#1-5C)	2.8 ± 0.4 (2–3)	1.0 ± 0.4 (0–2)	25
35S::FT (YK#1-5C); <i>fd-1</i>	18.4 ± 2.7 (14–24)	5.4 ± 1.2 (4–8)	20
<i>soc1-101D</i> ‡	1.9 ± 0.3 (1–2)§	2.1 ± 0.3 (2–3)	15
<i>soc1-101D; fd-1</i> ‡	2.0 ± 0 (2)	1.9 ± 0.3 (1–2)	21
Wild type (Ler)	7.2 ± 1.1 (6–9)	2.4 ± 0.8 (1–4)	22
<i>fd-1</i>	12.3 ± 0.7 (11–15)	4.1 ± 0.7 (3–5)	43
35S::FT (YK#1-5L)	2.0 ± 0 (2)	1.2 ± 0.4 (1–2)	40
35S::FT (YK#1-5L); <i>fd-1</i>	4.0 ± 0 (4)	2.4 ± 0.8 (1–4)	24

Мутация ***fd-1*** супрессирует проявление сверхэкспрессии **FT (35S::FT)**

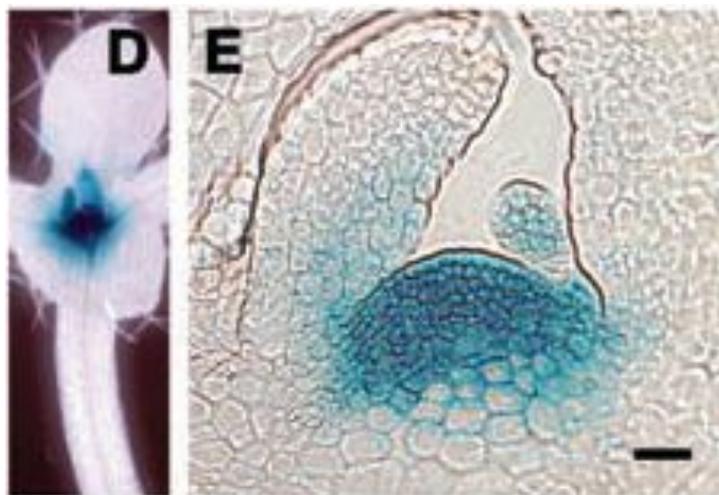


FT

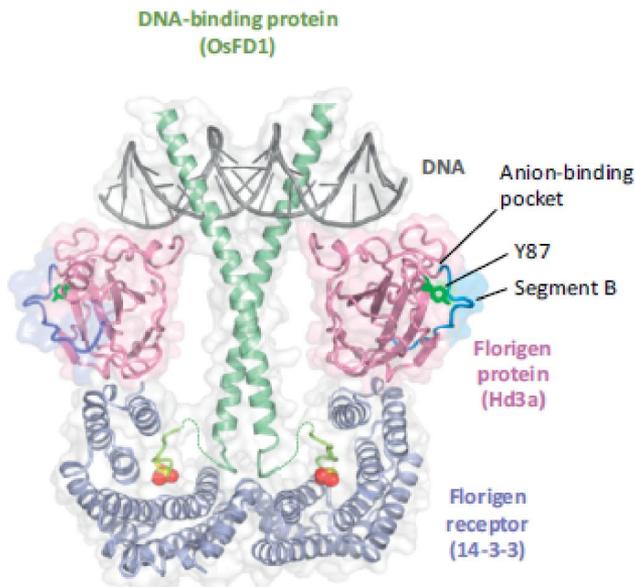


FD (FLOWERING LOCUS D)

Экспрессия FD (FD::

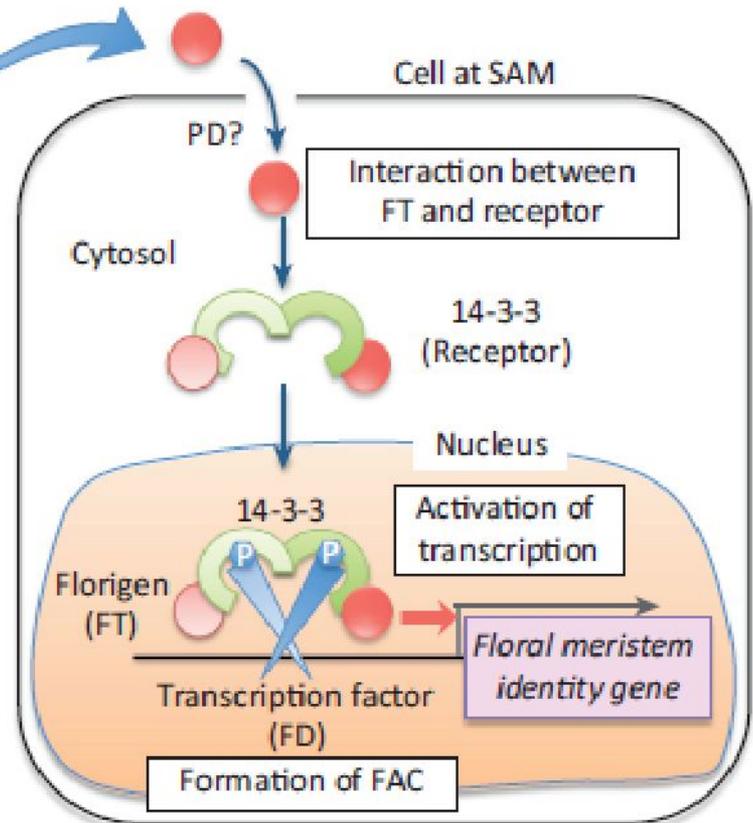
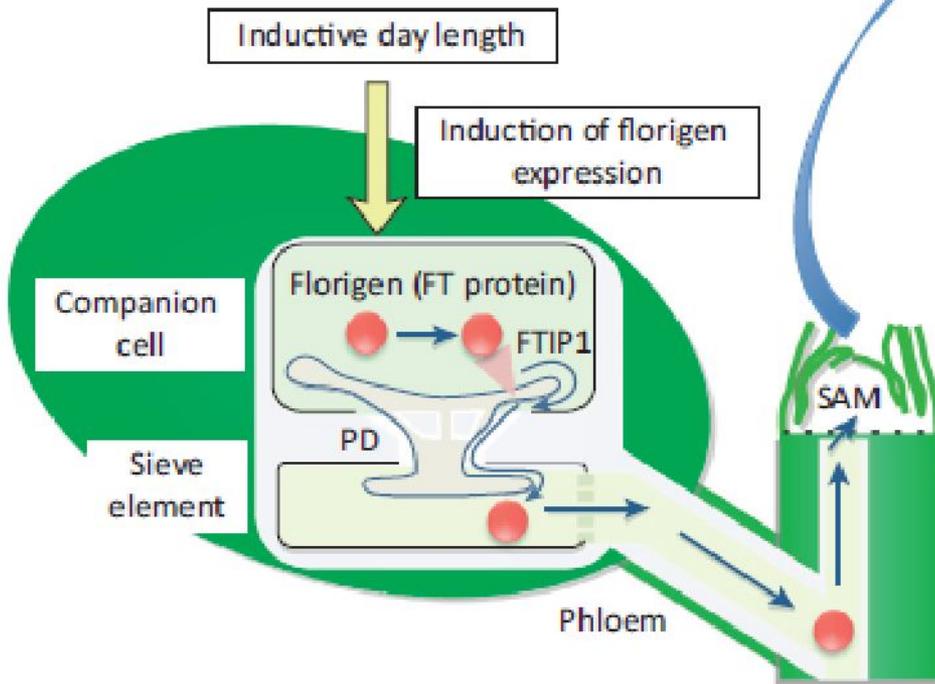


Передача сигнала флоригена FT: FAC (Florigen Activating Complex)

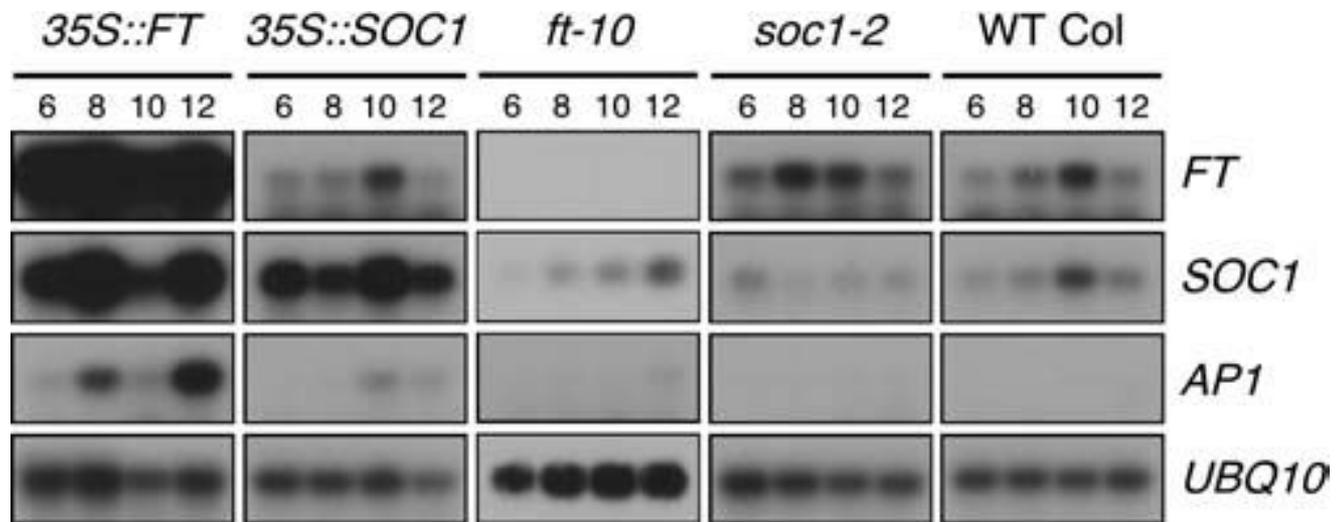


Участники:

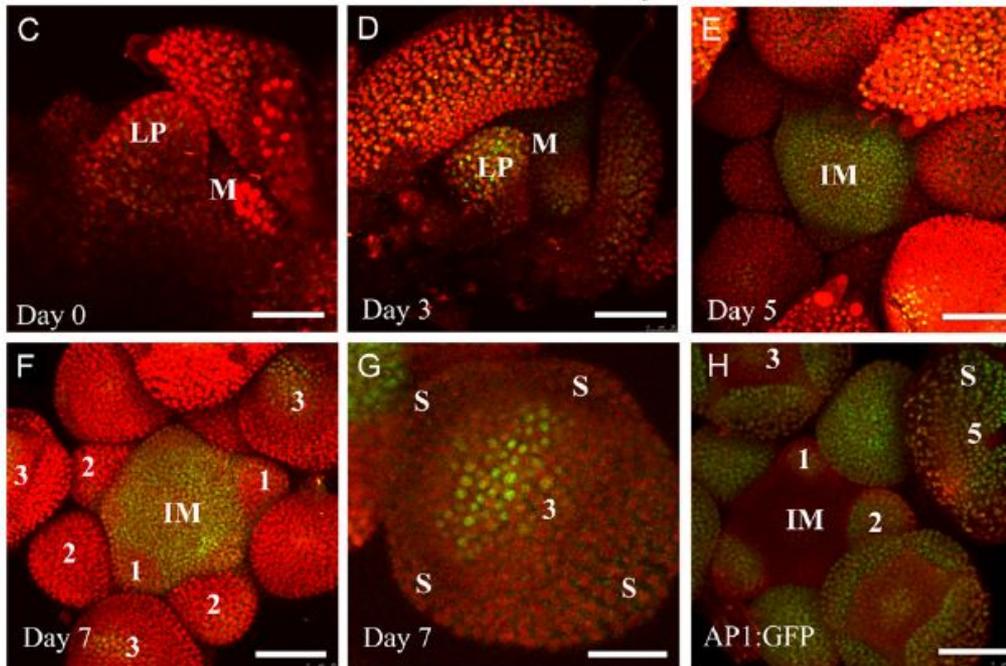
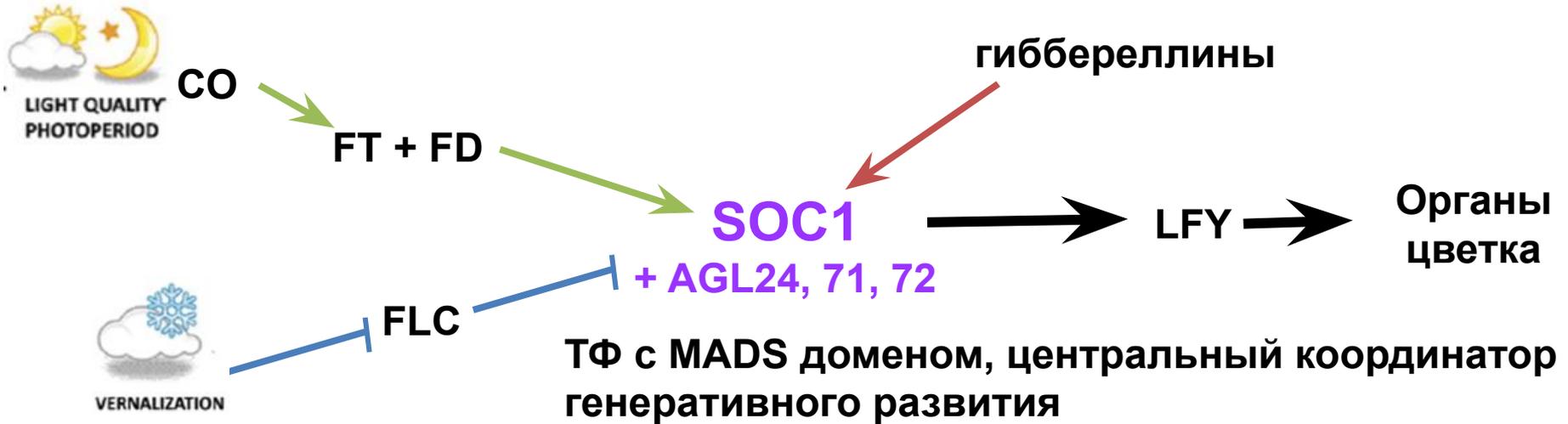
1. Белки семейства 14-3-3
2. Транскрипционный фактор FD



Выявление мишеней FT



Функции ТФ SOC1



SOC1
 экспрессируется
 в меристеме
 соцветия

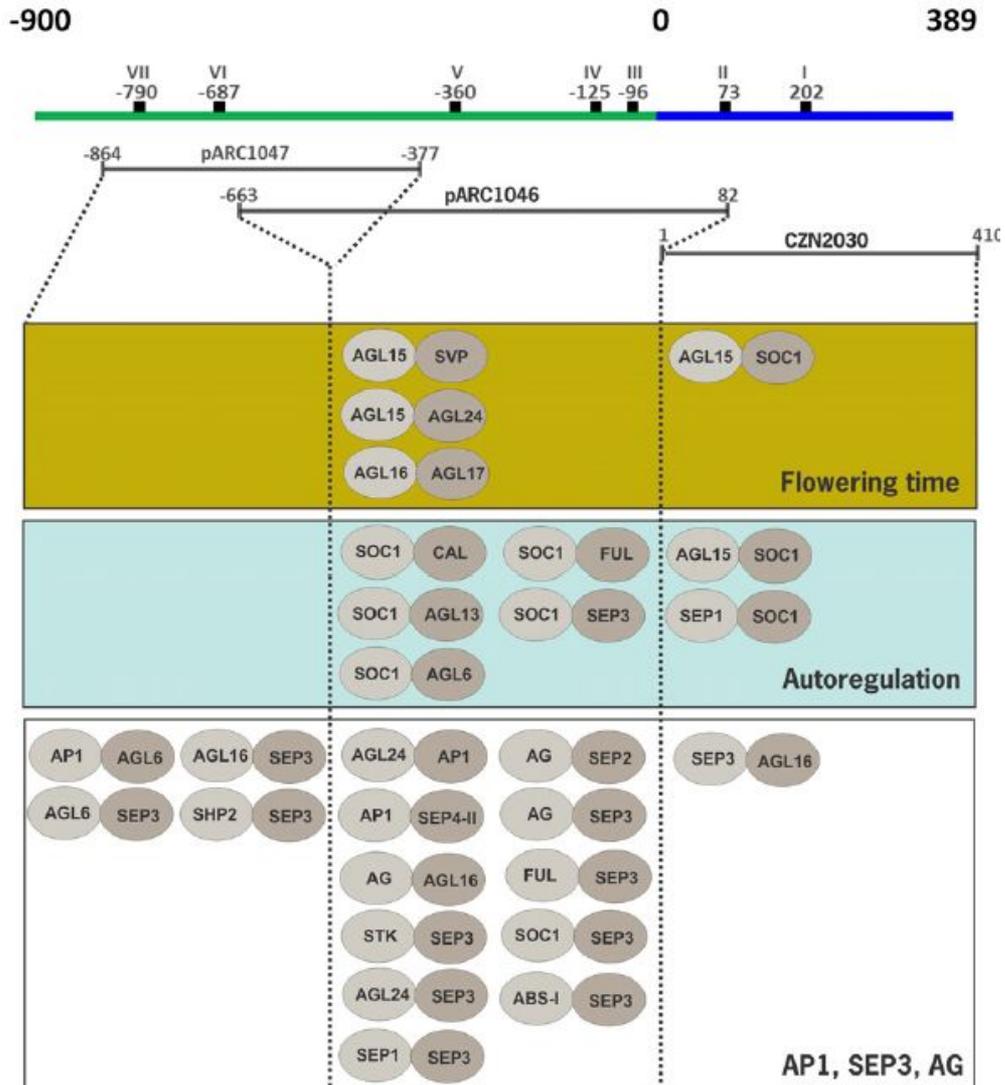
Экспрессия
SOC1
 подавляется
 после закладки
 органов цветка

Мишени ТФ SOC1

Table I. Known and potential flowering-time and floral organ identity genes targeted by SOC1

Above the boldface data line, all highly confident SOC1 binding positions are indicated. The binding events in and below the boldface line scored above the set threshold level in at least one of the three replicates.

Orp Rank ^a	Up/Down	Gene No. ^b	Gene Name ^c	Genomic Position ^{b,d}	fdr Biological Replicate 1 ^e	fdr Biological Replicate 2 ^e	fdr Biological Replicate 3 ^e
1		AT2G45660	<i>SOC1</i>	89	0	7.06E-155	6.17E-156
2		AT2G40805	<i>miR319c</i>	2,291	0	4.30E-158	5.12E-143
10		AT3G54990	<i>SMZ</i>	2,628	1.47E-167	5.80E-50	1.84E-36
14		AT5G11977	<i>miR156e</i>	1,495	9.29E-125	3.66E-43	2.74E-38
17		AT1G24260	SEP3	2,725	6.84E-125	8.49E-36	2.83E-26
26		AT2G21070	<i>FIO1</i>	2,901	3.27E-96	5.35E-23	4.34E-22
27		AT2G42830	<i>SHP2</i>	374	3.71E-72	1.11E-22	4.95E-26
31		AT3G57390	<i>AGL18</i>	86	5.77E-51	1.24E-23	5.67E-22
35		AT5G67180	<i>TOE3</i>	1,377	3.30E-42	1.47E-18	4.41E-24
63		AT3G23130	SUP	956	3.40E-33	6.62E-08	3.78E-12
85		AT2G33860	<i>ETT/ARF3</i>	2,406	5.49E-25	7.22E-06	3.36E-11
88		AT4G36920	AP2	1,653	2.53E-22	4.42E-10	4.55E-07
93		AT5G13790	<i>AGL15</i>	234	6.77E-26	2.35E-07	2.28E-05
99		AT3G54340	AP3	146	4.11E-29	4.65E-06	0.00011
120		AT1G68840	<i>TEM2</i>	2,627	3.06E-25	6.17E-06	0.00390
127		AT5G37260	<i>CIR1</i>	2,589	1.14E-16	0.00304	1.19E-07
151		AT1G09570	<i>PHYA</i>	518	1.56E-10	0.00067	0.00017
167		AT5G20240	PI	1,600	2.53E-18	0.00564	0.00678
216		AT2G39250	<i>SNZ</i>	871	1.08E-14	0.09177	0.00037
220		AT4G39400	<i>BRI1</i>	1,827	6.72E-15	0.00061	0.06837
248		AT2G22540	<i>SVP</i>	2,248	0.00277	0.00021	0.01839
273		AT5G02030	<i>PNY</i>	2,635	3.42E-09	0.00802	0.07193
399		AT1G25560	TEM1	785	1.58E-06	0.32562	0.00407
460		AT1G53230	<i>TCP3</i>	1,187	4.45E-06	0.28021	0.02362
480		AT4G32980	<i>ATH1</i>	153	0.00076	0.26590	0.01159
510		AT3G47500	<i>CDF3</i>	1,832	0.07417	0.08909	0.01199
567		AT2G28550	<i>TOE1</i>	97	8.95E-06	0.30502	0.05613
919		AT1G54830	<i>NFYC9</i>	26	0.01235	0.31815	0.09357
1241		AT5G41663	<i>miR319b</i>	690	0.09056	0.62522	0.01219



SOC1 →

- SEP3, SEP 1, 2, 4
- AP1, AP2
- AP3, PI
- AG, AGLs

С промотором **SOC1** связываются димеры «цветочных» ТФ **MADS**, подавляя его экспрессию

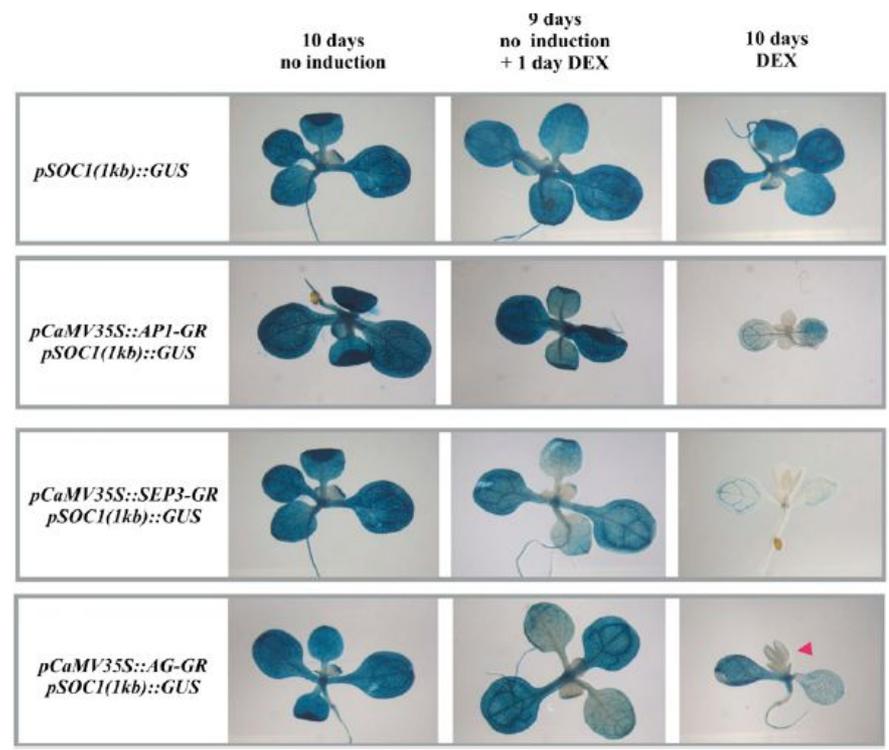
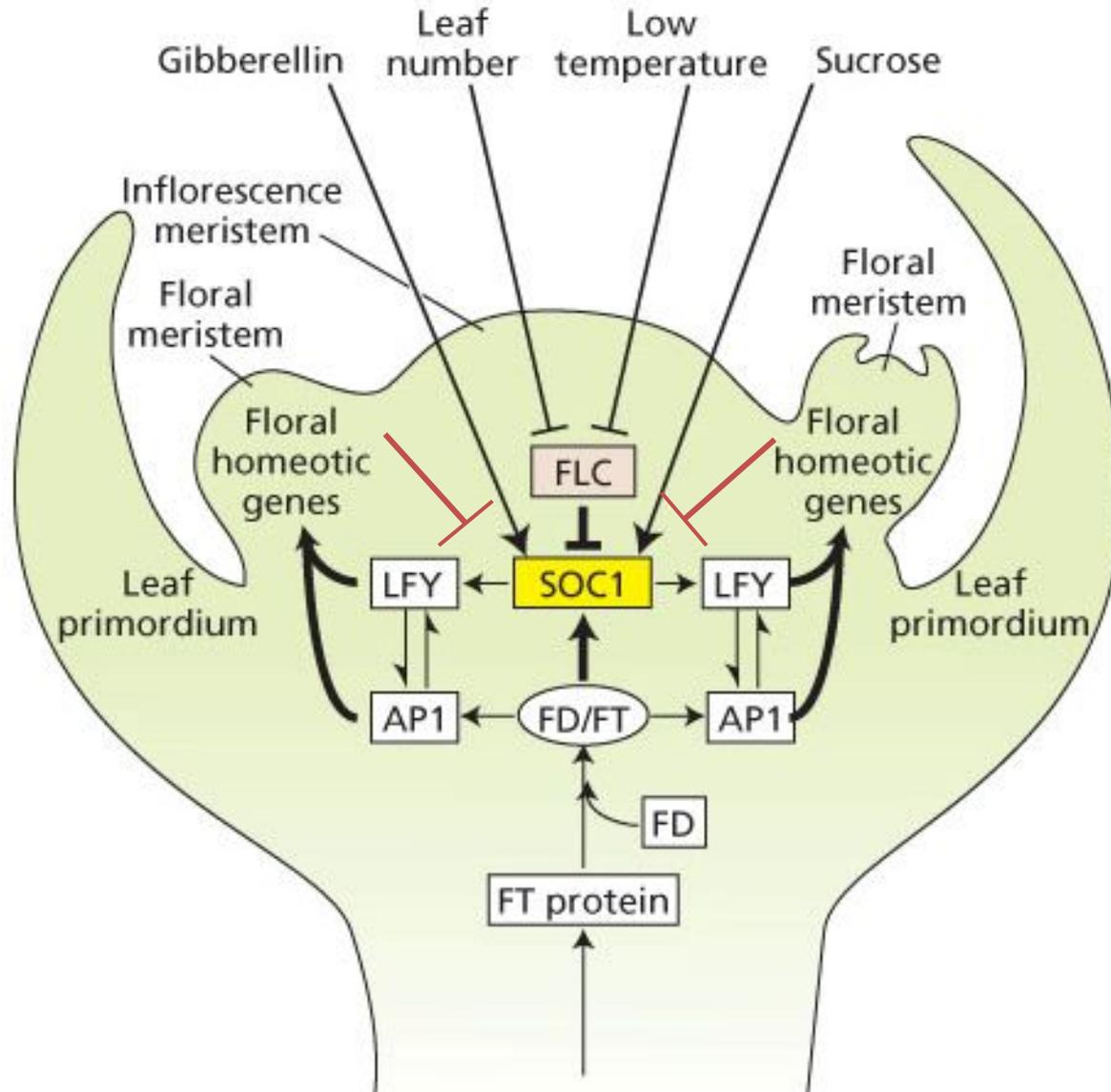
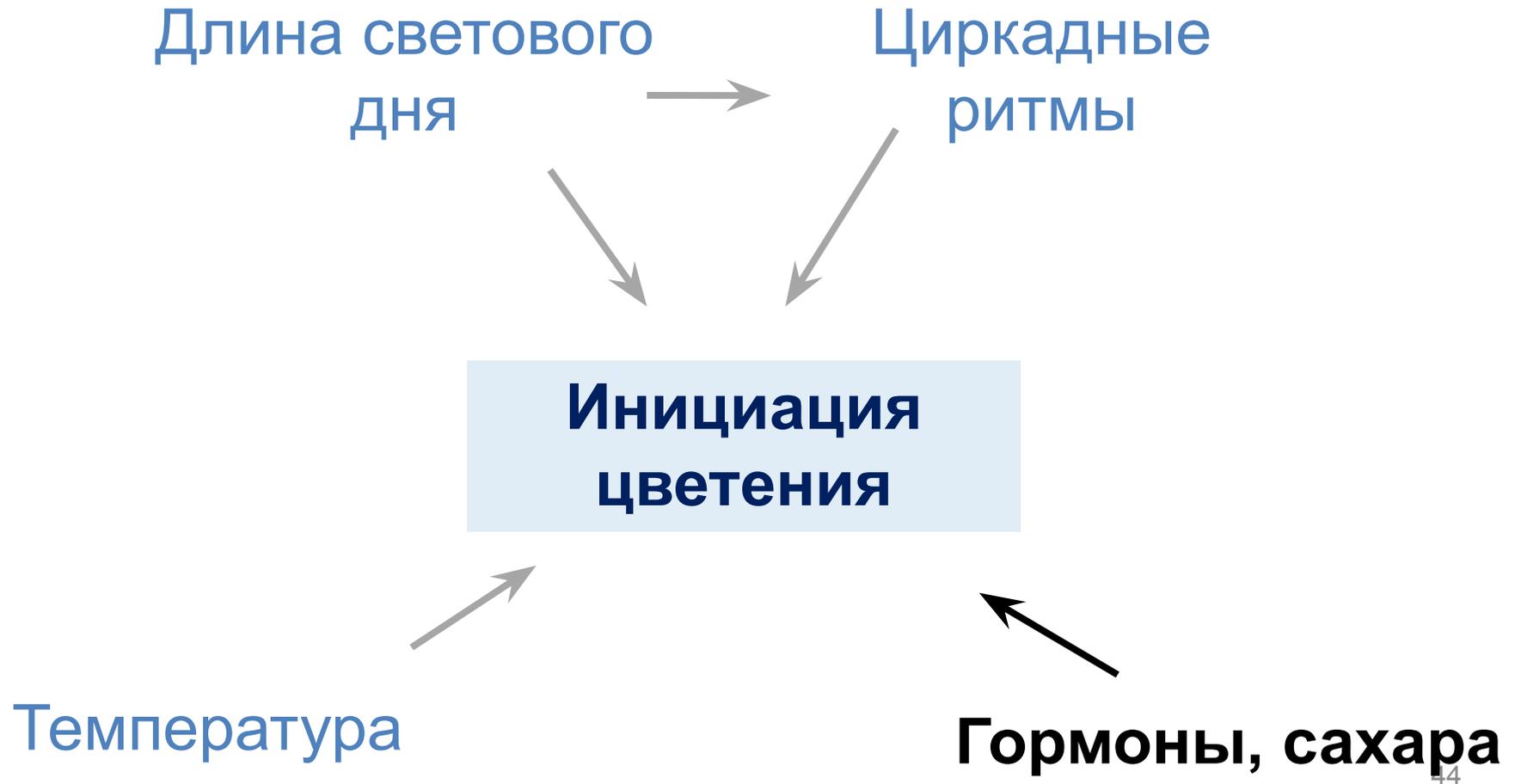


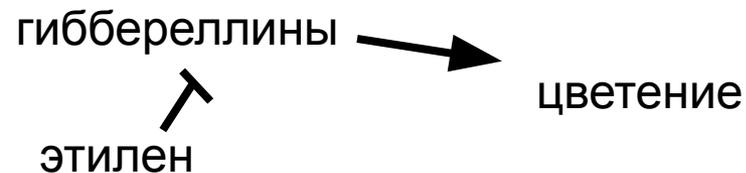
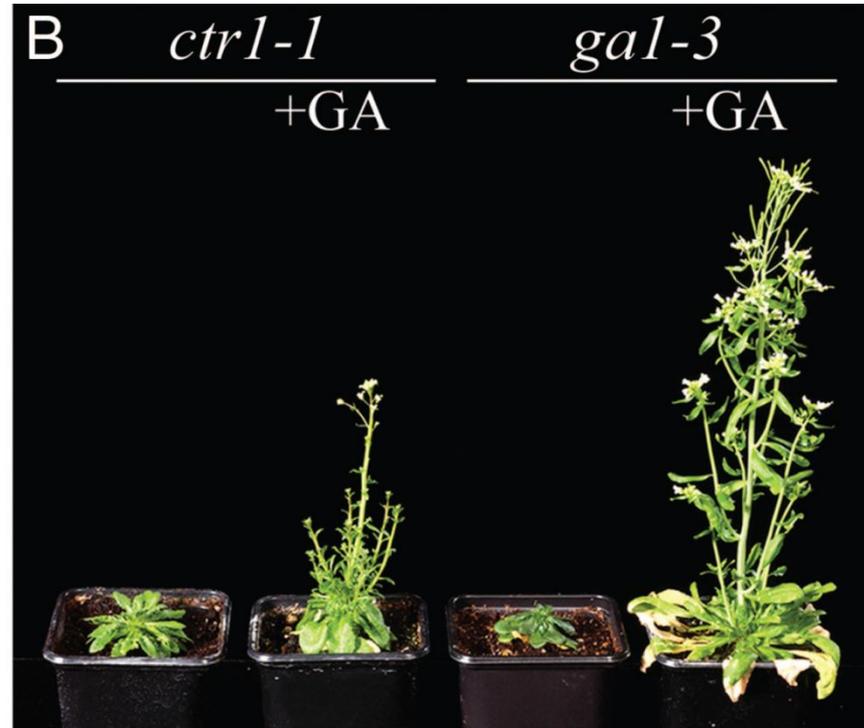
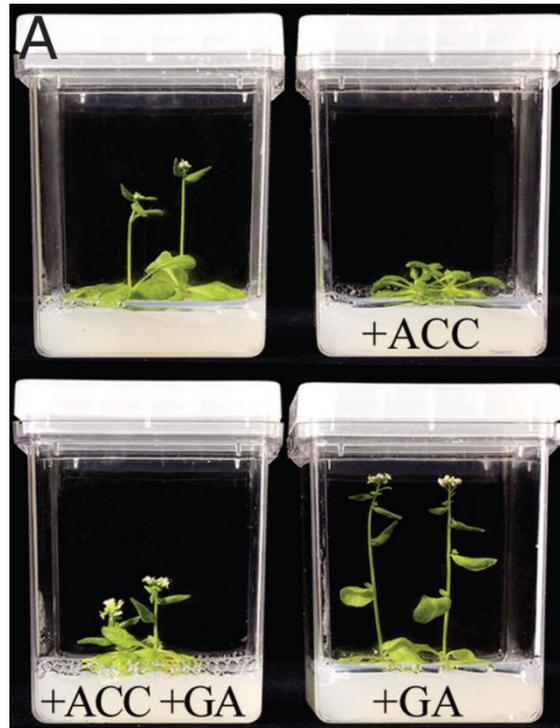
Схема регуляции цветения у растений с участием ТФ SOC1



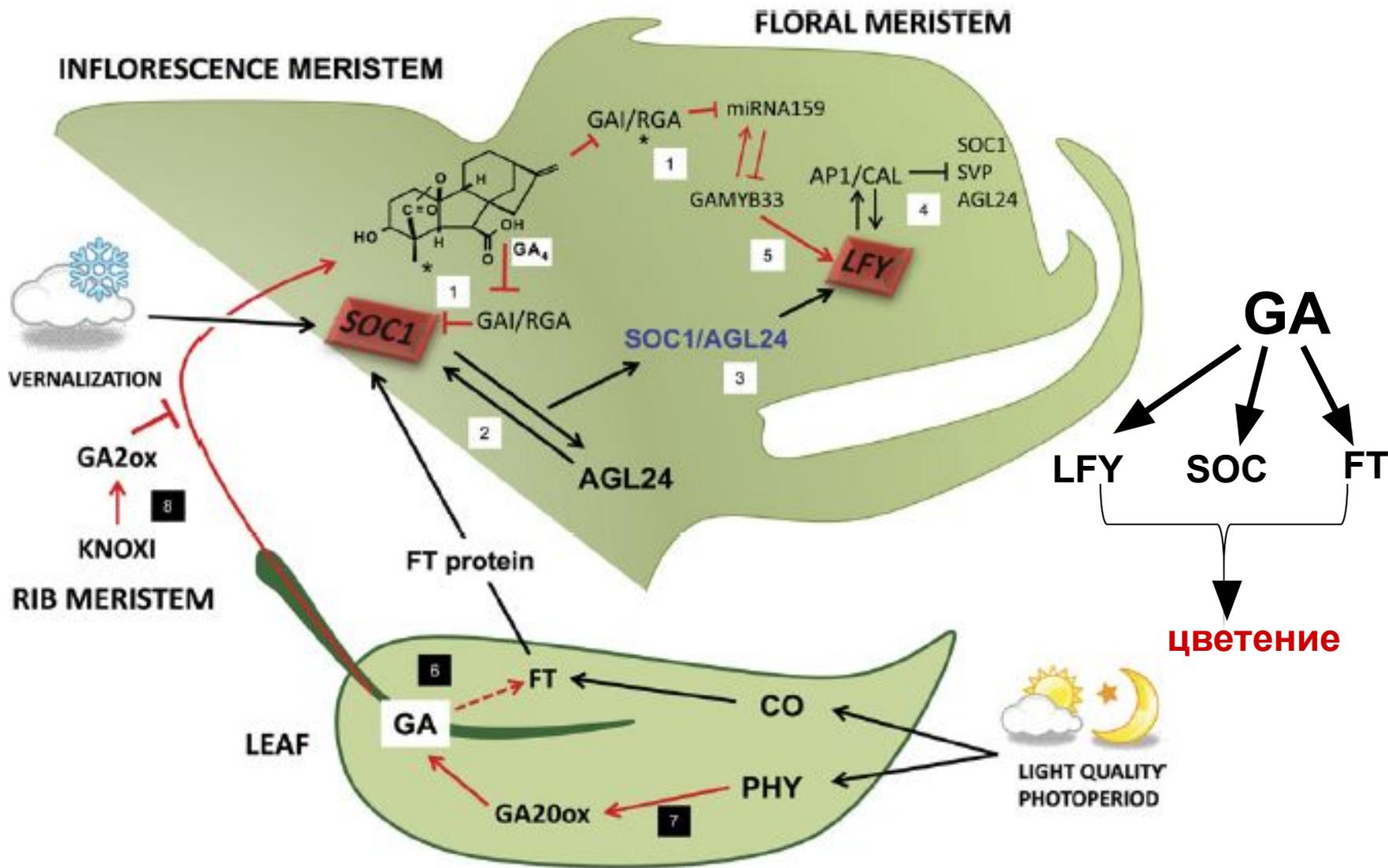
Влияние различных факторов на инициацию цветения



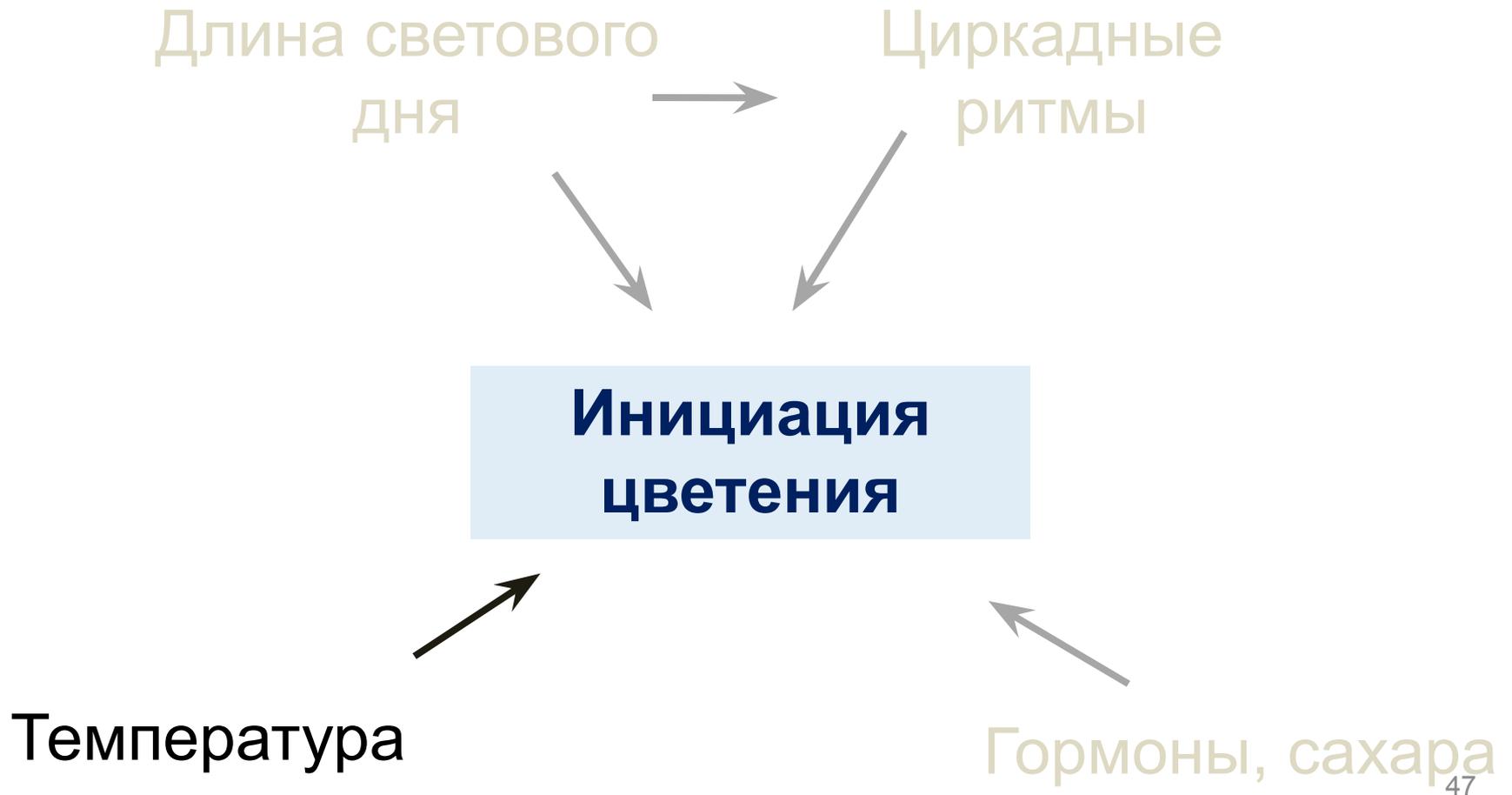
Антагонизм этилена и гиббереллинов в регуляции цветения



Роль гиббереллинов в индукции цветения

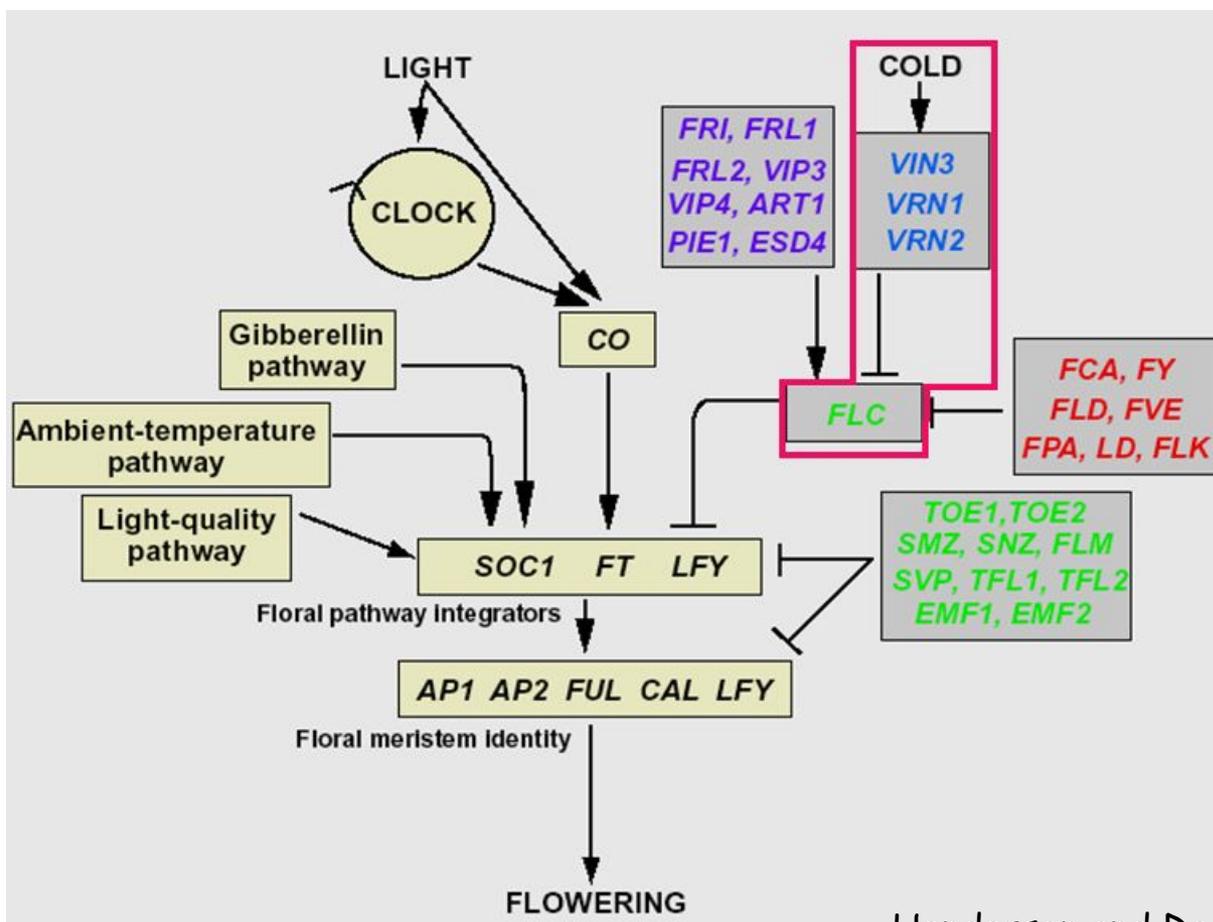


Влияние различных факторов на инициацию цветения



Влияние температуры на инициацию цветения

Вернализация — продолжительное воздействие низких температур (как правило, 1-7 °С в течение 1-3 месяцев), необходимое для инициации цветения у некоторых видов растений



Молекулярные основы эпигенетических изменений:

1. метилирование ДНК
2. модификация структуры хроматина:
 - ✓ изменение уровня метилирования и ацетилирования гистонов
 - ✓ группа Polycomb- белков
3. РНК-сайленсинг (микроРНК (miRNAs) и малые интерферирующие РНК (siRNAs))

Факторы, регулирующие инициацию цветения по пути вернализации:

★ Репрессор цветения

FLC – FLOWER LOCUS C –ТФ семейства MADS

★ Белки VERNALIZATION (VRN) и VERNALISATION-INDEPENDENT (VIN)

VRN1 - ДНК-связывающий Муб-белок

VRN2 - белок Polycomb-группы, обладающий гистон-метил-трансферазной активностью

VIN3 – компонент гистон-деацетилазного комплекса

репрессия транскрипции гена **FLC** при вернализации



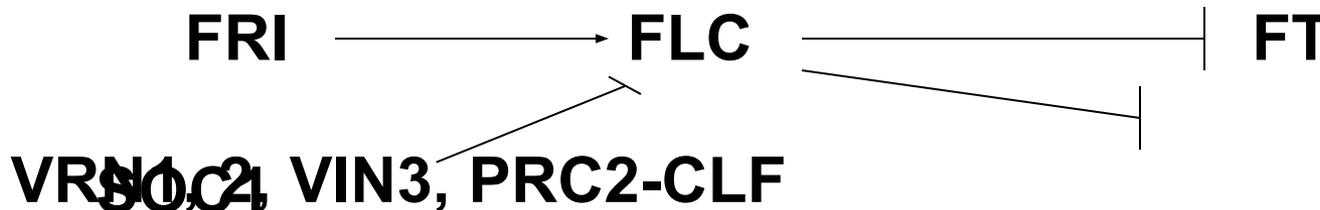
переход к цветению



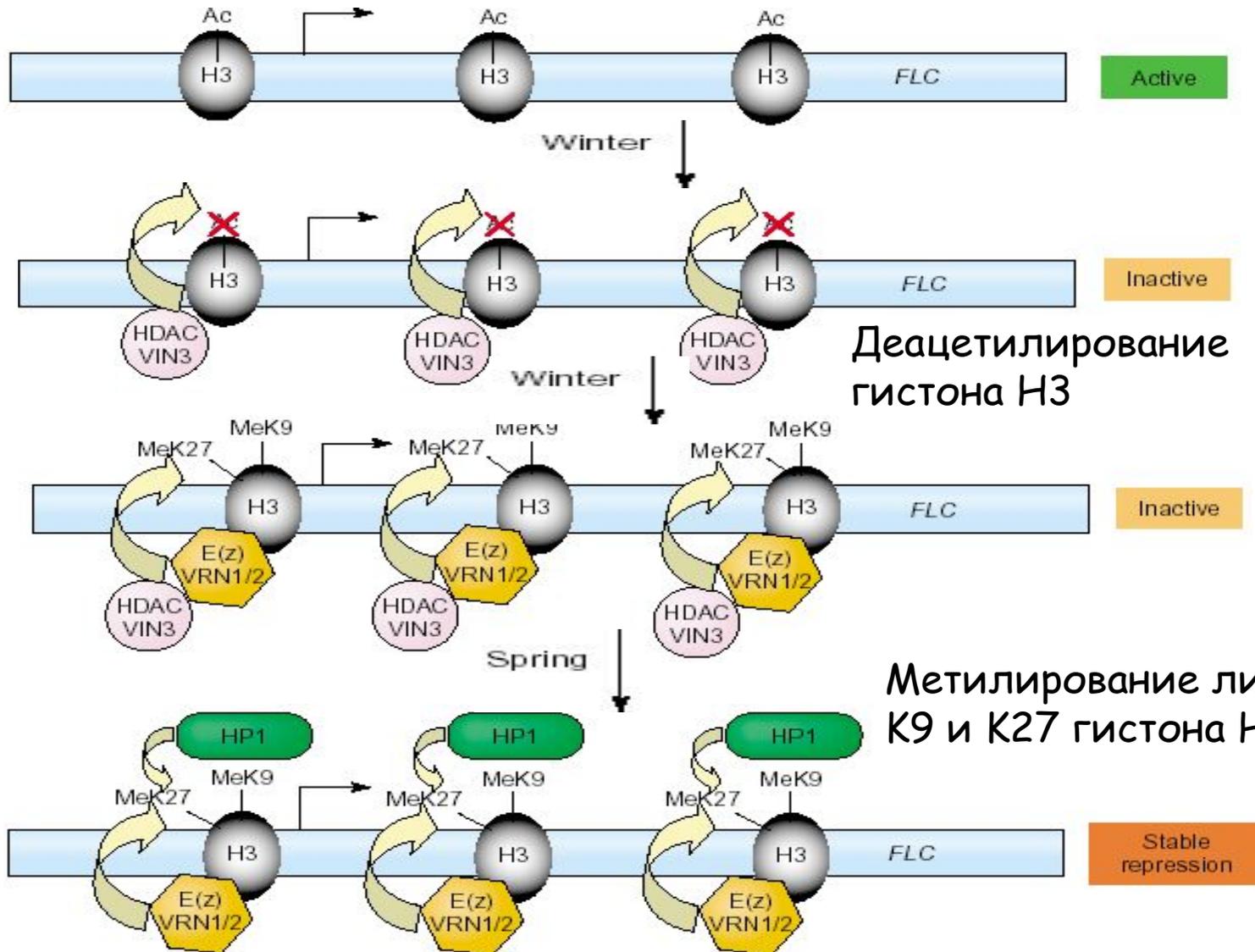
активация транскрипции гена **FLC**

★ Белок FRIGIDA (FRI)

основа гистон-деметиلاзного комплекса H3K27me3, мишень – Lys27 гистона H3

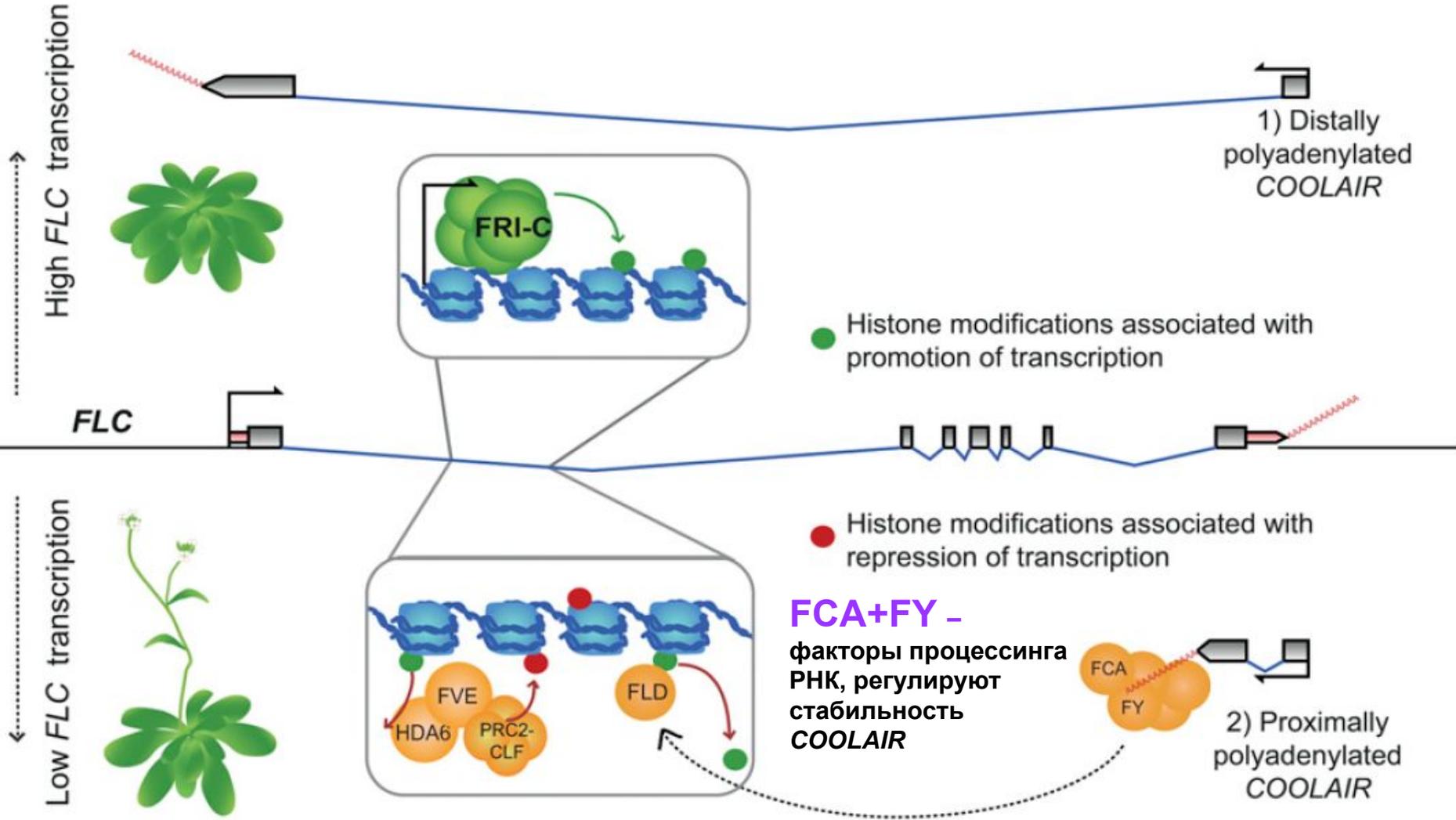
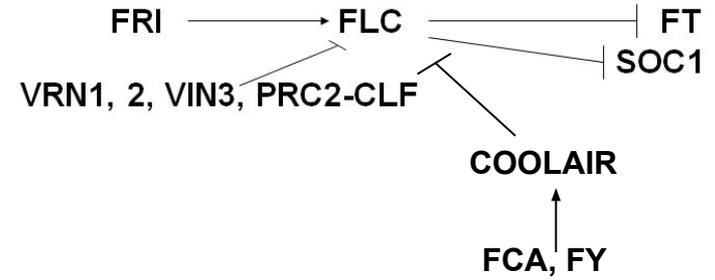


Эпигенетическая регуляция активности гена **FLC** с участием белков **VRN**



Регуляция уровня транскриптов *FLC*:

метирирование /де-метирирование гистонов, антисенс-РНК

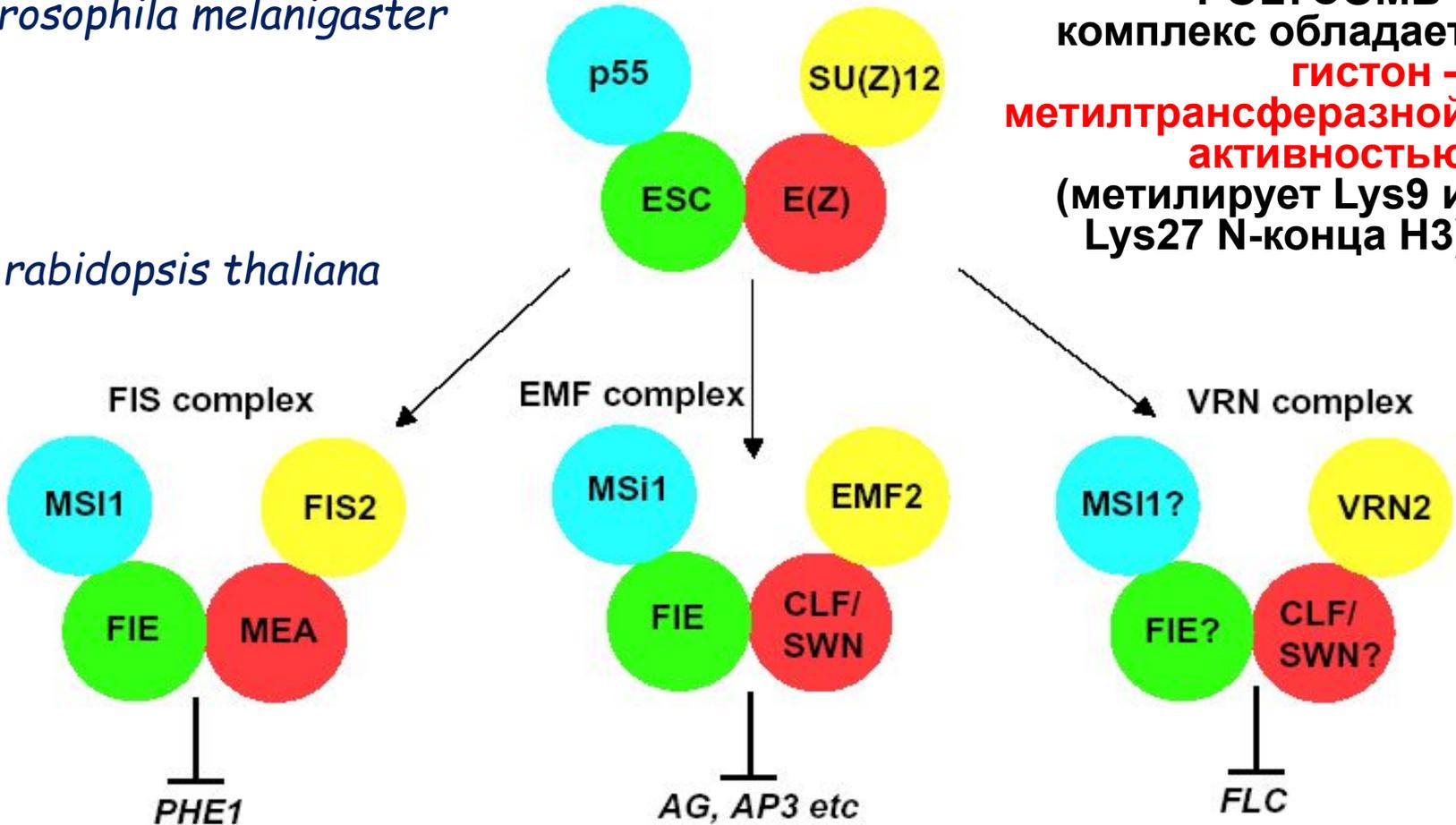


Белки Polycomb-группы подавляют транскрипцию генов, изменяя структуру хроматина

Drosophila melanogaster

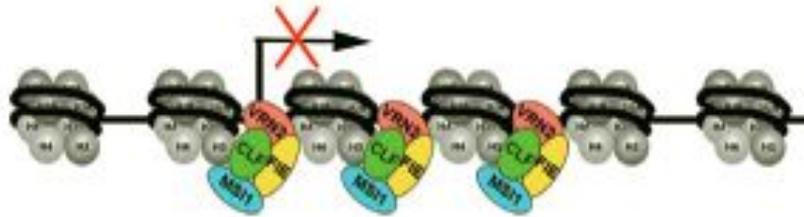
Arabidopsis thaliana

POLYCOMB - комплекс обладает **ГИСТОН – метилтрансферазной активностью** (метилюет Lys9 и Lys27 N-конца H3)

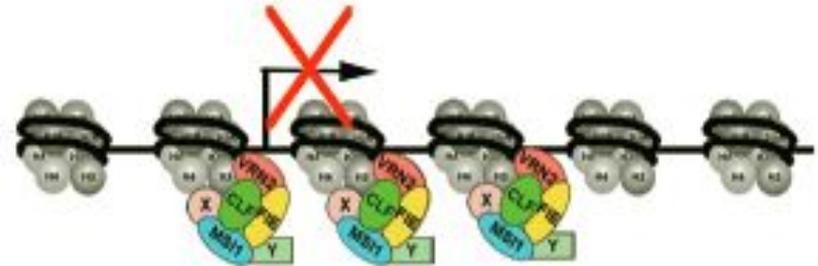


Взаимодействие комплекса PRC2 с другими белками

(a) core PRC2 repression



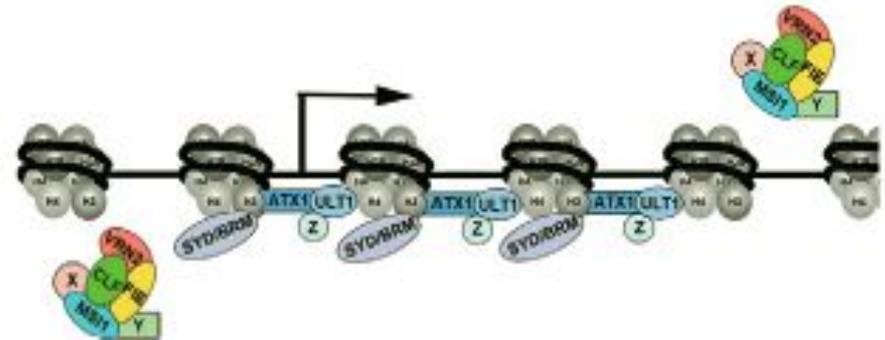
(b) co-factors enhance PRC2 repression



(c) PRC2 repression stabilized by PPRC1



(d) PRC2 repression counteracted by trxG



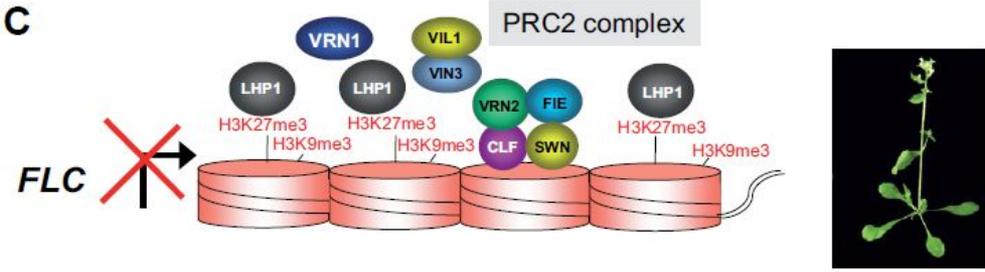
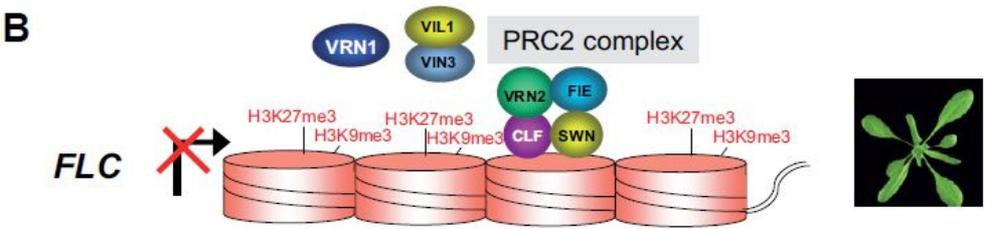
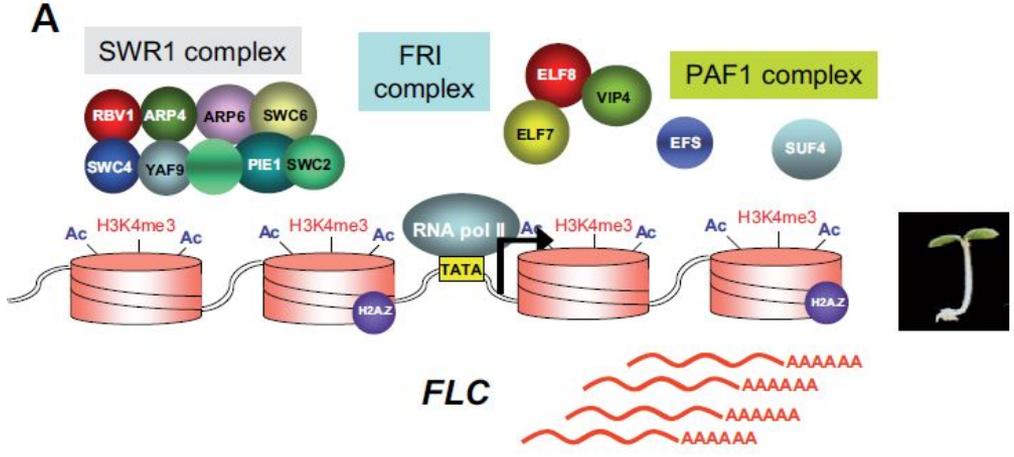
(a) – только PRC2 комплекс □ неполное подавление экспрессии

(b) – присоединение белков-кофакторов □ полное подавление экспрессии

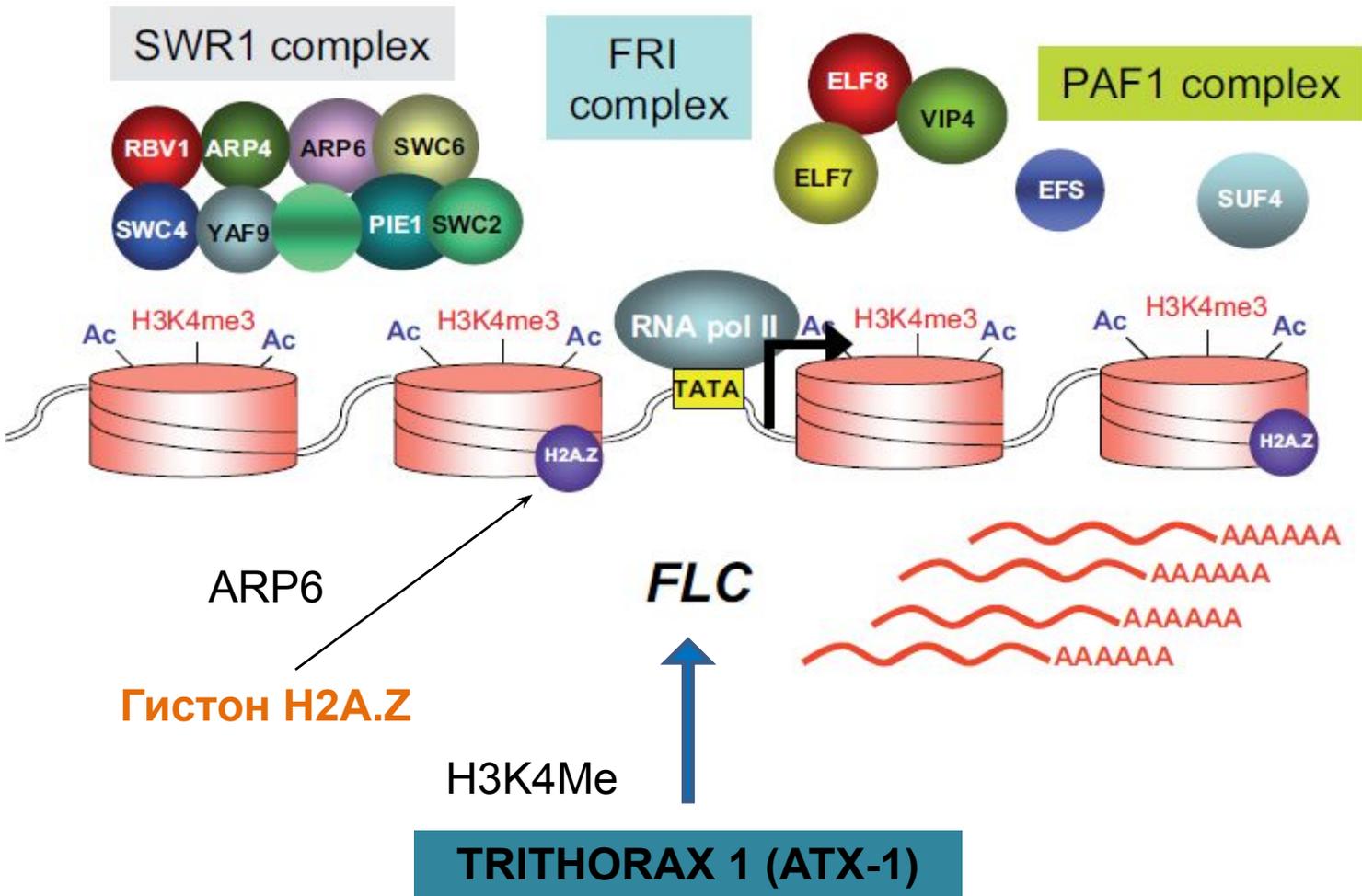
(c) – присоединение комплекса PRC1 □ стабилизация подавления экспрессии

(d) – присоединение комплекса trxG □ снятие репрессии

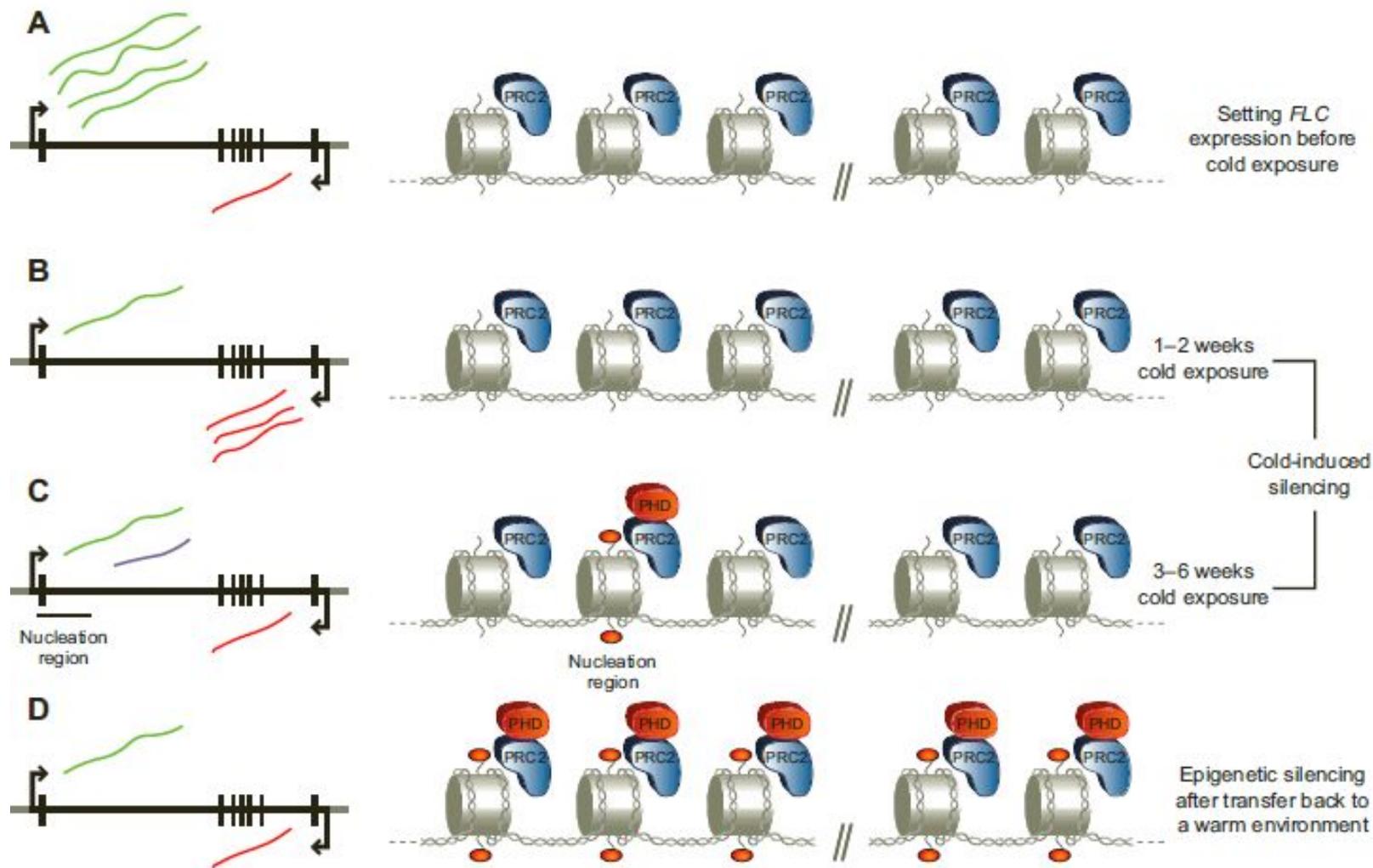
Регуляция экспрессии *FLC* с помощью эпигенетических механизмов



Активация экспрессии FLC (в эмбриональном развитии)

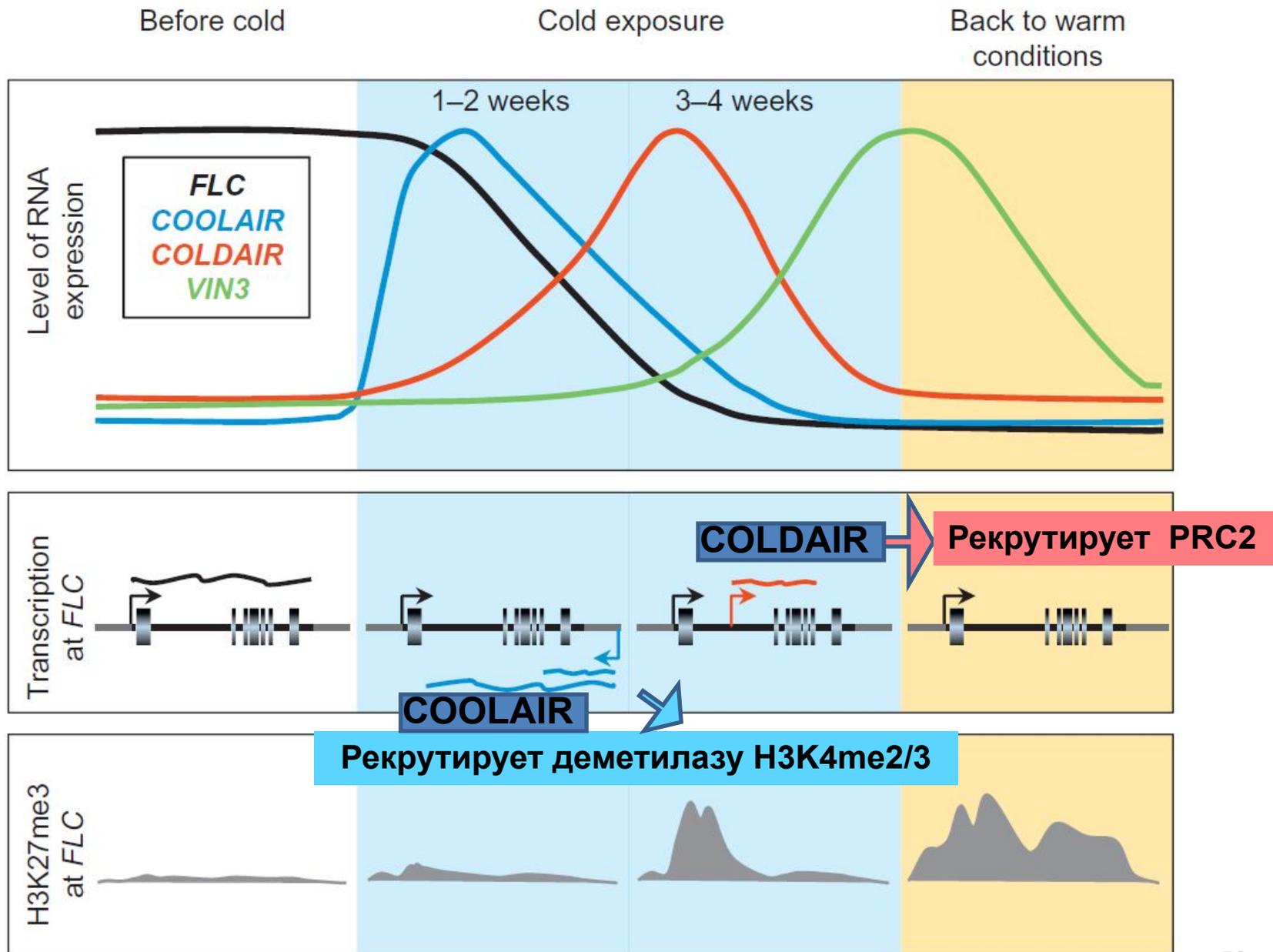


Участие некодирующих РНК в подавлении экспрессии FLC



- **COOLAIR** (COLD INDUCED LONG ANTISENSE RNA) – антисенс FLC
- **COLDAIR** (COLD ASSISTED INTRONIC NONCODING RNA) – считывается с 1 интрона FLC

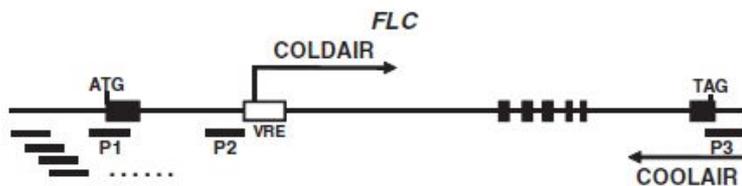
Участие некодирующих РНК в подавлении экспрессии FLC



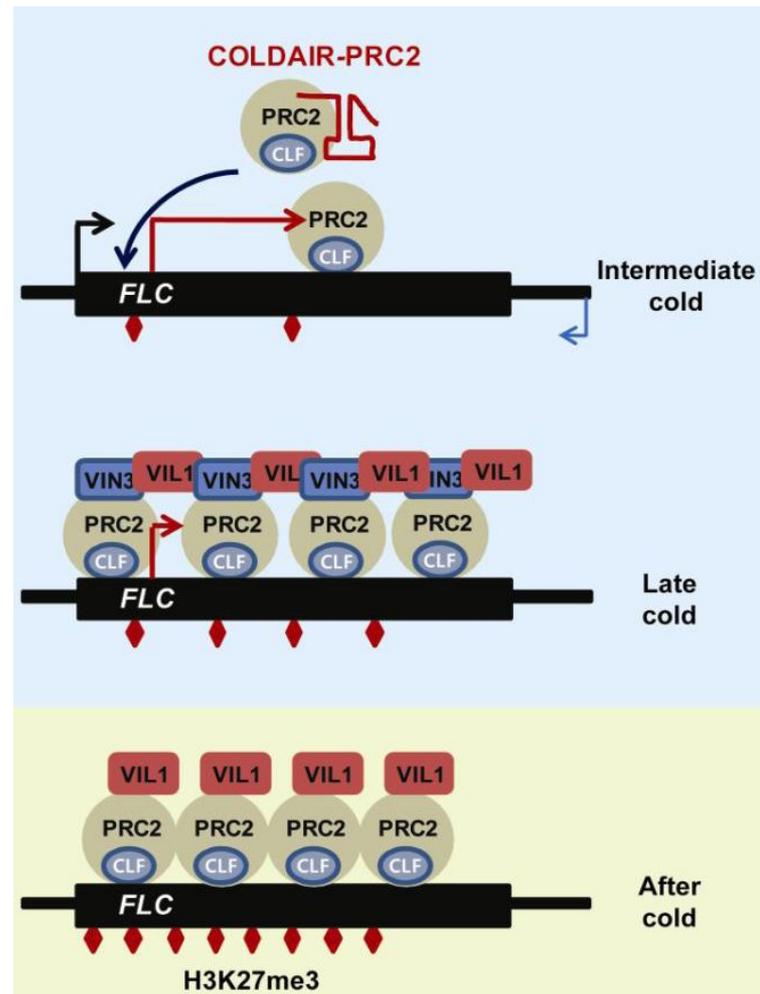
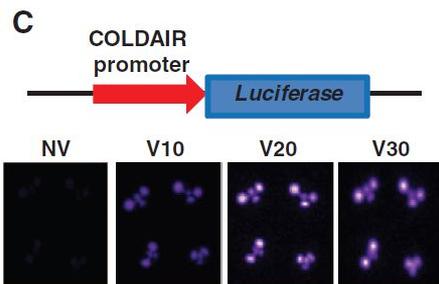
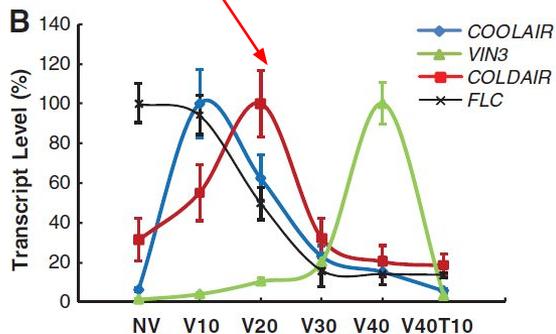
COLDAIR рекрутирует компоненты PRC2 (Polycomb repression complex 2) к локусу FLC, опосредуя его стабильную репрессию

COLDAIR – (long non-coding RNA – lncRNA)

- ✓ транскрибируется с **1-го интрона** локуса FLC (**c**old **a**ssisted **i**ntronic noncoding **R**NA)
- ✓ размер около 1100 н.



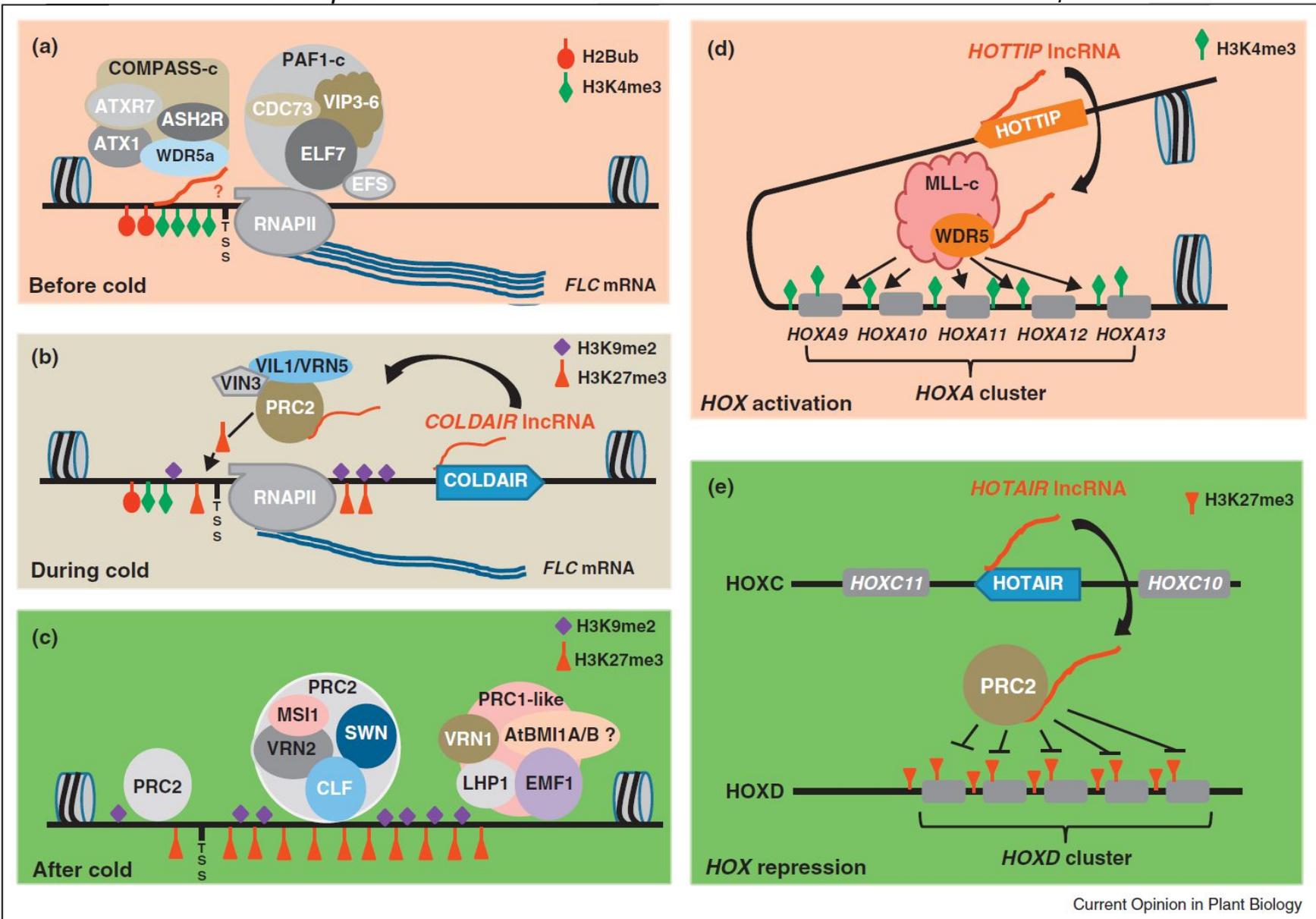
Активация экспрессии COLDAIR при вернализации

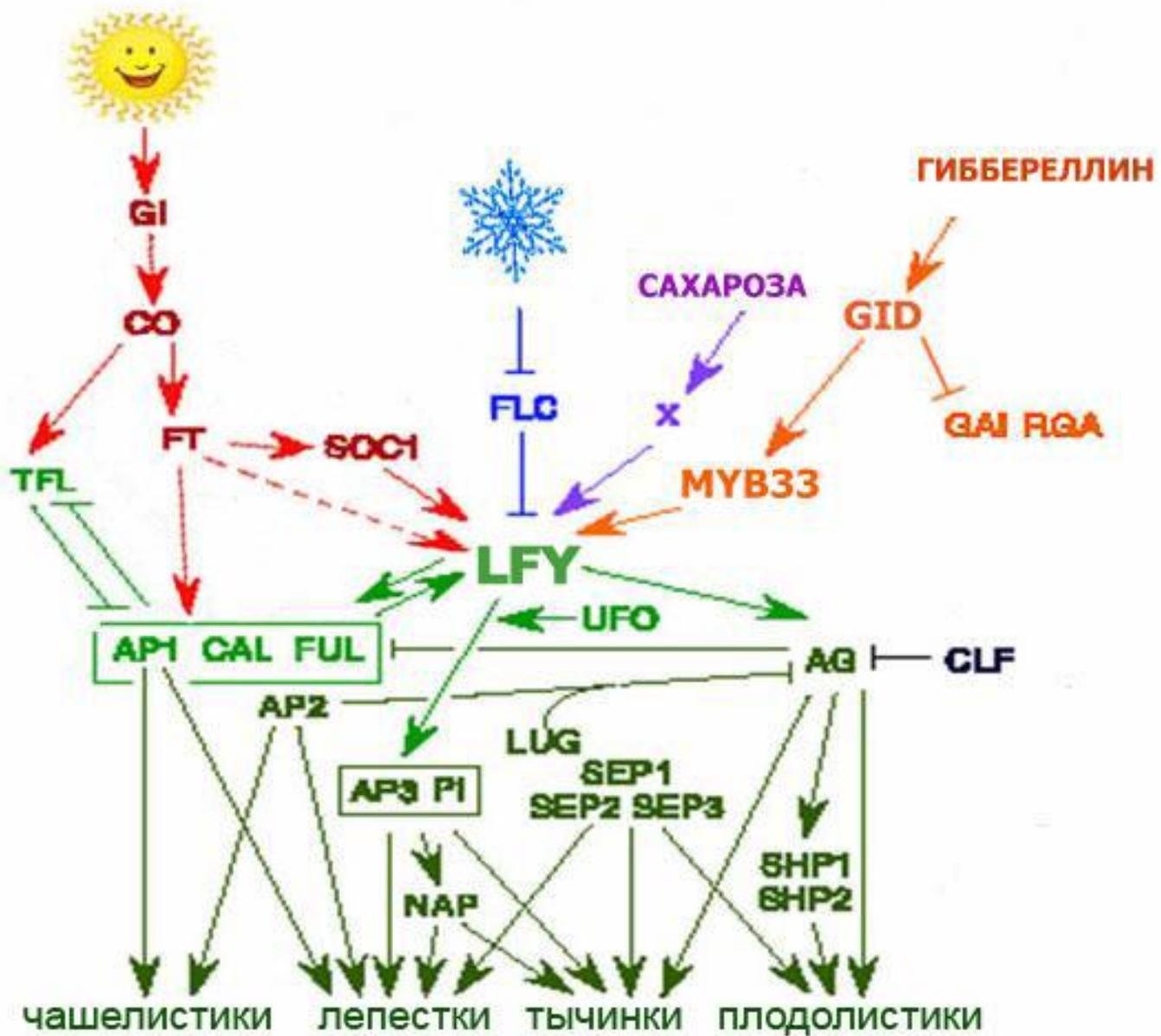


Регуляция экспрессии с участием комплексов Thrithorax, Polycomb и длинных некодирующих РНК

Arabidopsis

млекопитающие





Основные гены идентичности цветковых меристем у *A.thaliana*

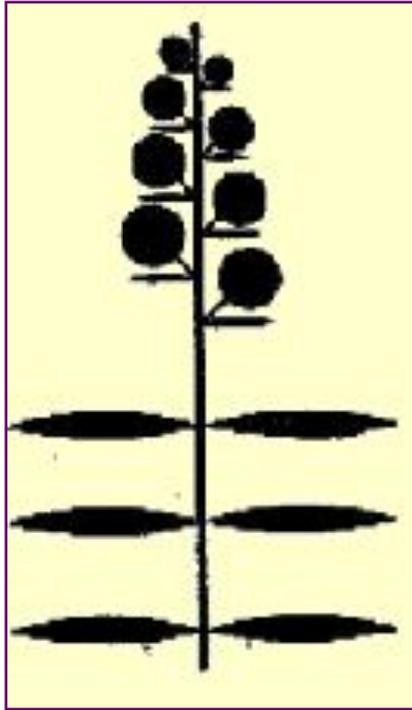
- *LEAFY (LFY)*

- *APETALA1 (AP1)*

- *CAULIFLOWER (CAL)*

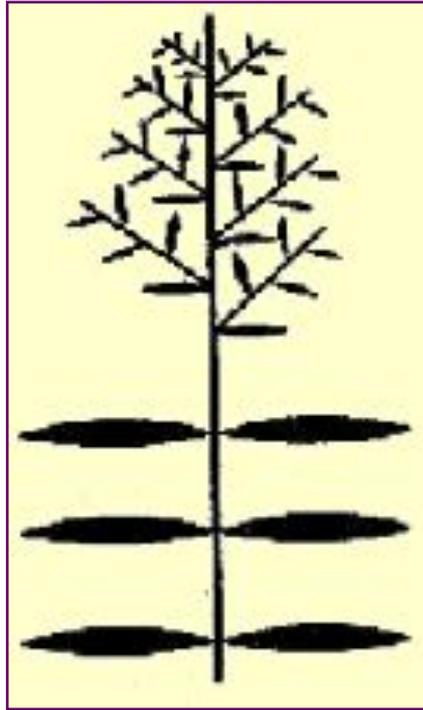
- *UNUSUAL FLORAL ORGANS (UFO)*

Мутации, нарушающие функцию генов, отвечающих за образование цветочной меристемы, приводят к замене цветков на побеги (гомеозисные мутации)

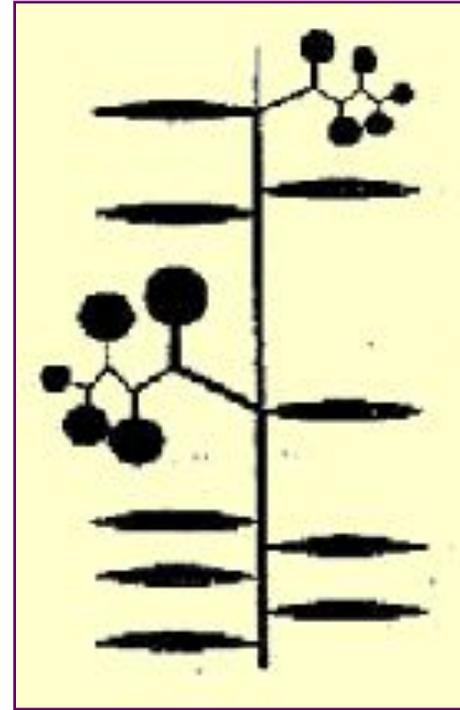


wt

Antirrhinum majus

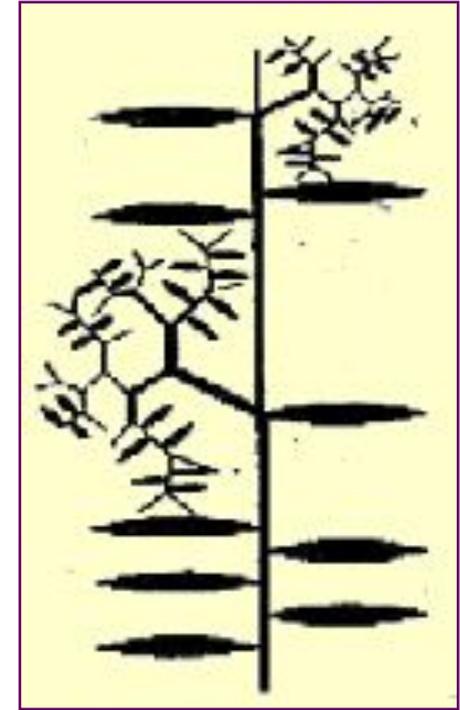


floricaula



wt

Lycopersicon esculentum



falsiflora

Нормальные аллели этих генов отвечают за метаморфоз побегов в цветки в соответствии с классической теорией Гете

Фенотип мутации *lfy* у арабидопсиса



дикий тип

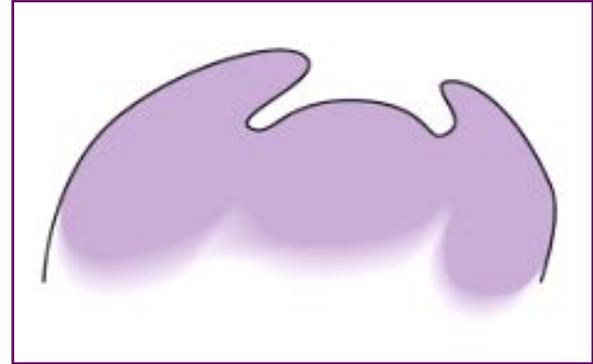
lfy



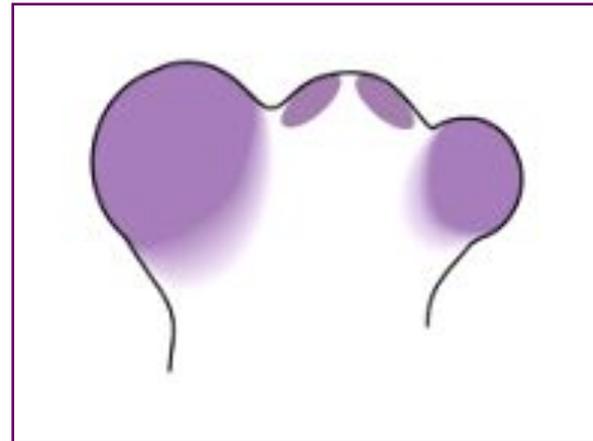
lfy

Экспрессия гена *LFY* у арабидопсиса

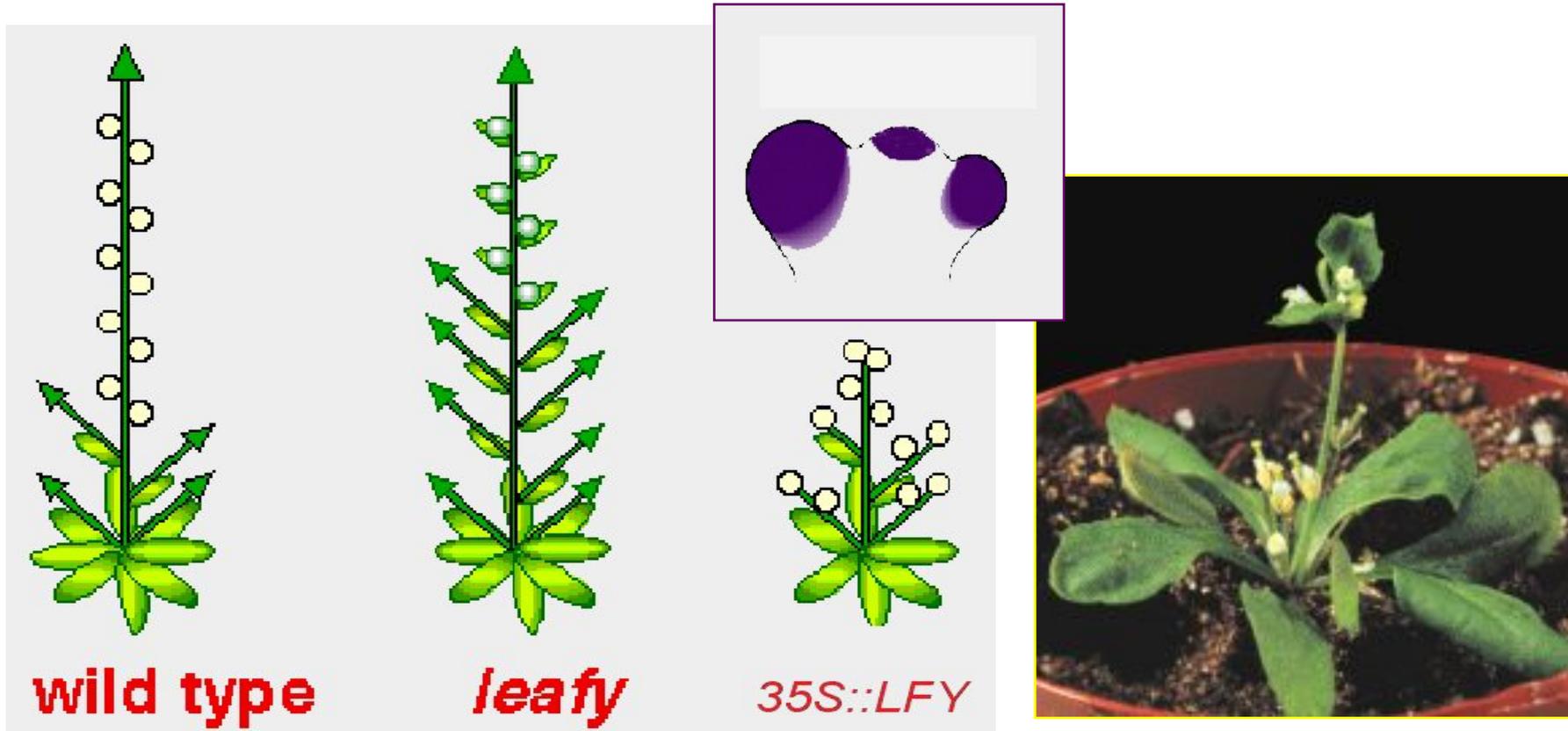
Слабый уровень экспрессии гена *LFY* наблюдается и на вегетативной стадии развития (в АМ и листовых примордиях)



На репродуктивной стадии экспрессия усиливается (достигает порогового уровня) и сосредотачивается по бокам АМ (в участках заложения ФМ)



Фенотип трансгенных растений 35S::LFY служит дополнительным подтверждением роли LFY в формировании ФМ



У растений 35S::LFY ген LFY экспрессируется и в АМ, что приводит к ее превращению во ФМ и формированию терминальных цветков (закрытию соцветия)

Ортологи гена LFY

FLORICAULA (FLO) – Antirrhinum majus

NFL – Nicotiana tabacum

ALF – Petunia hybrida

FALSIFLORA – Lycopersicon esculentum

UNIFOLIATA (UNI) – Pisum sativum

ELF1 – Eucalyptus globules

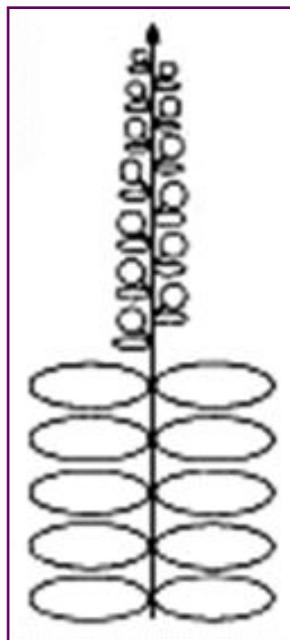
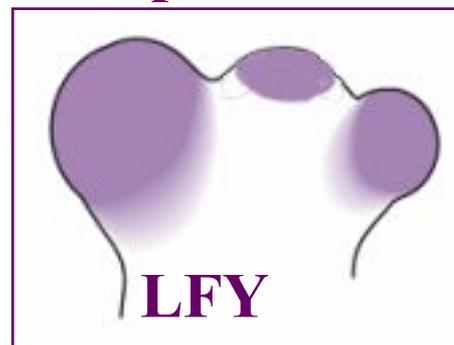
NEEDLY (NLY) - Pinus radiata

Характер экспрессии генов-ортологов LFY/FLO определяет тип соцветия (открытое или закрытое)

открытое



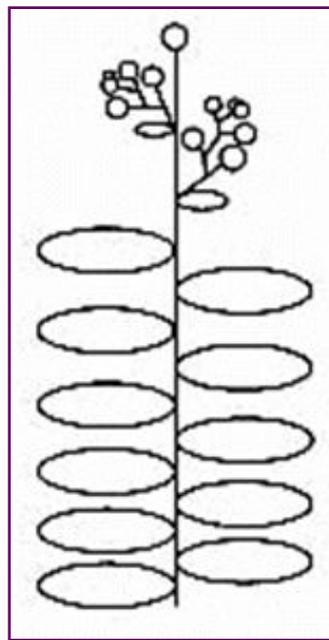
закрытое



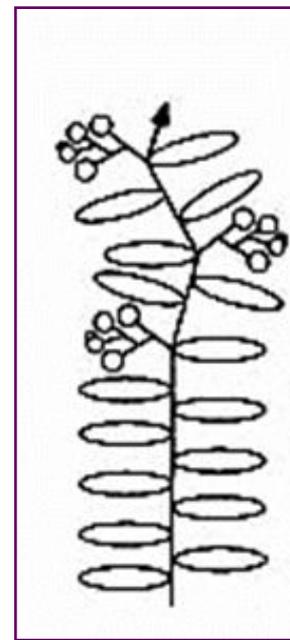
Antirrhinum



Arabidopsis



табак



томат

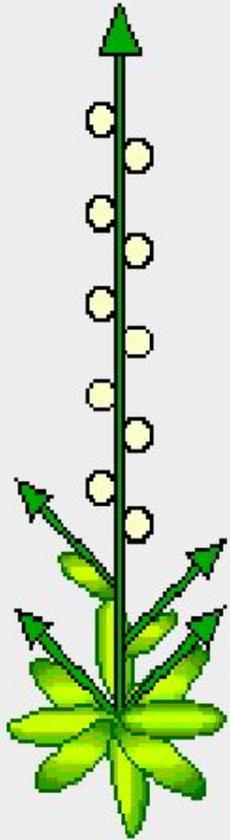
Ген сосны NEEDLY под промотором гена LFY супрессирует мутацию *lfy-26*



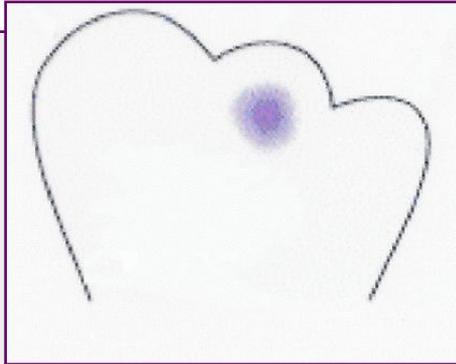
Наличие ортологов генов LFY/FLO у голосеменных и покрытосеменных растений позволяет предполагать, что эти гены участвовали в возникновении репродуктивных органов у предковых форм семенных растений

Зависимость структуры побега (открытый/закрытый) от особенностей экспрессии ортологов LFY/FLO свидетельствуют о том, что генетически обусловленные изменения характера экспрессии этих генов могли оказывать существенное влияние на эволюцию структуры соцветия

Ген *TFL1* – антагонист гена *LFY*. Его экспрессия препятствует экспрессии *LFY* в АМ. При мутации *tfl1* ген *LFY* начинает экспрессироваться и в АМ, превращая соцветие в закрытое (как в растениях *35S::LFY*)



wild type

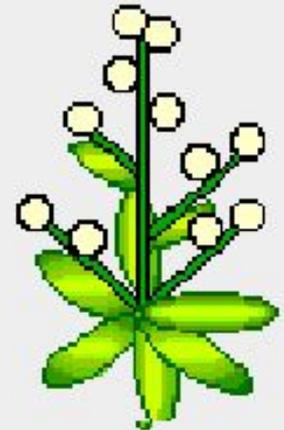


terminal
flower1



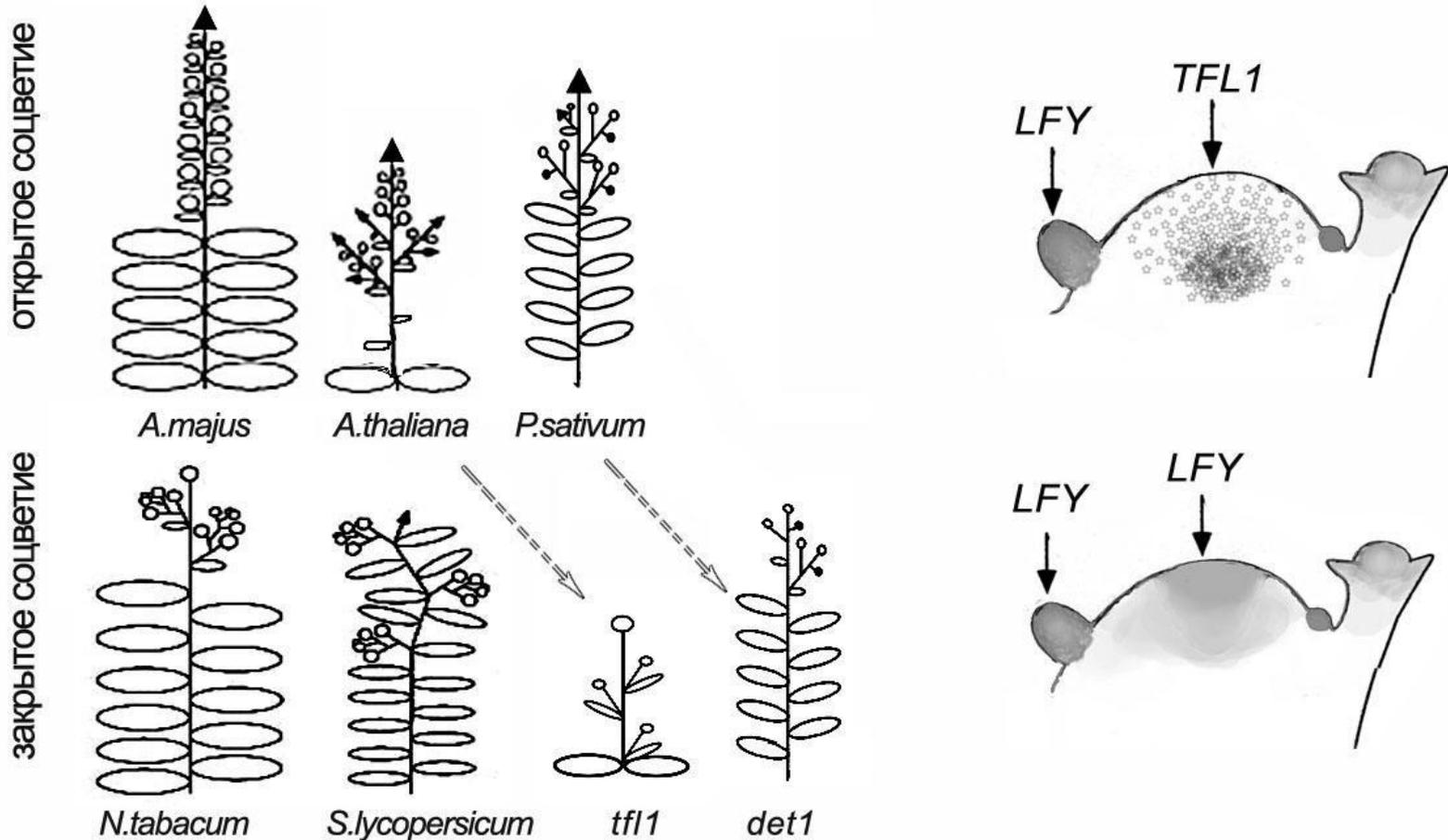
terminal
flower1

Экспрессия *LFY*



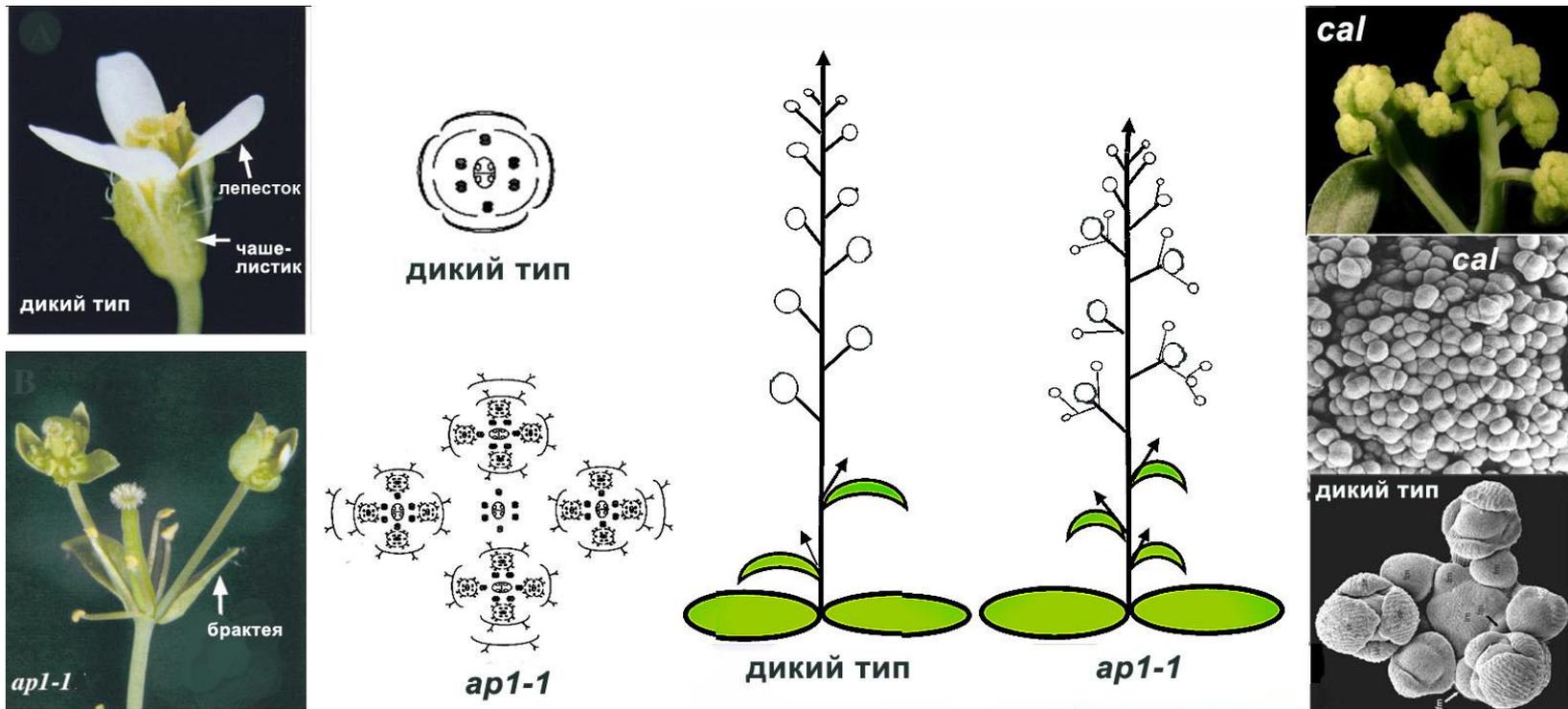
35S::LEAFY

Связь между структурой соцветия (открытое/закрытое) и особенностями экспрессии генов антогонистов – ортологов *LFY* и *TFL1* в меристеме соцветия



APETALA1 (AP1) и CAULIFLOWER (CAL) - гены идентичности цветковых меристем

Оба гена кодируют транскрипционные факторы с MADS-доменом



Особенности морфологии мутантов *ap1* и *cal* *Arabidopsis thaliana*

Фенотип двойной мутации *ap1 cal* у арабидопсиса



Соцветие двойного мутанта *apetala1 cauliflower* арабидопсиса



У мутанта *ap1cal* меристемы соцветия формируют новые меристемы соцветия, но не цветочные меристемы

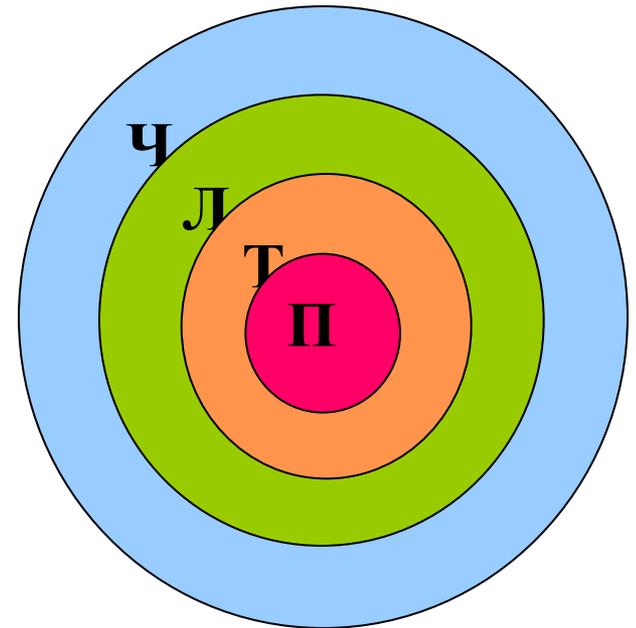
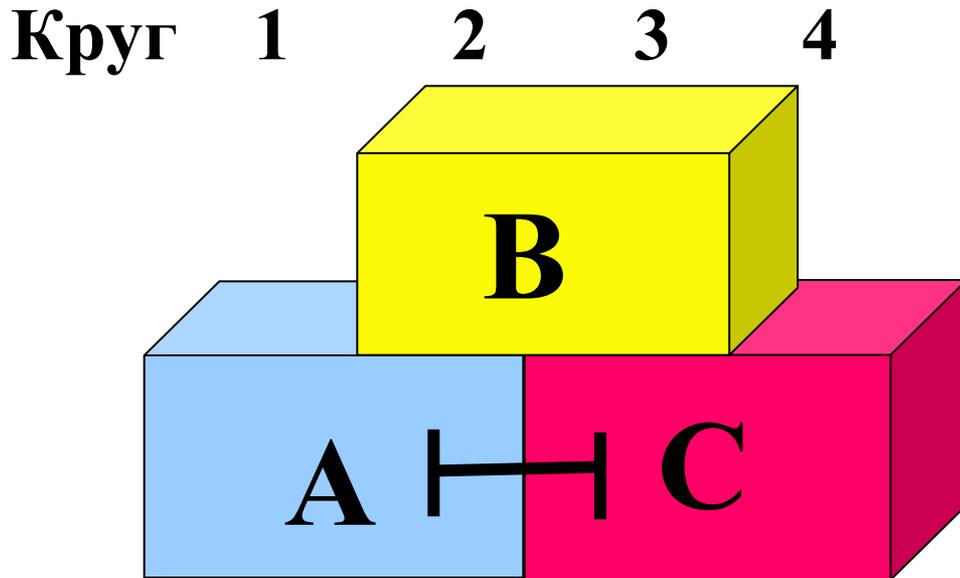
Генетический контроль дифференцировки органов цветка



Гомеозисные
мутанты
арабидопсиса



ABC-модель развития органов цветка (Coeen, Meyerowitz, 1991)



Орган Ч Л Т П

A. thaliana

A. majus

A AP1, AP2

SQUA, FIM

B AP3, PI

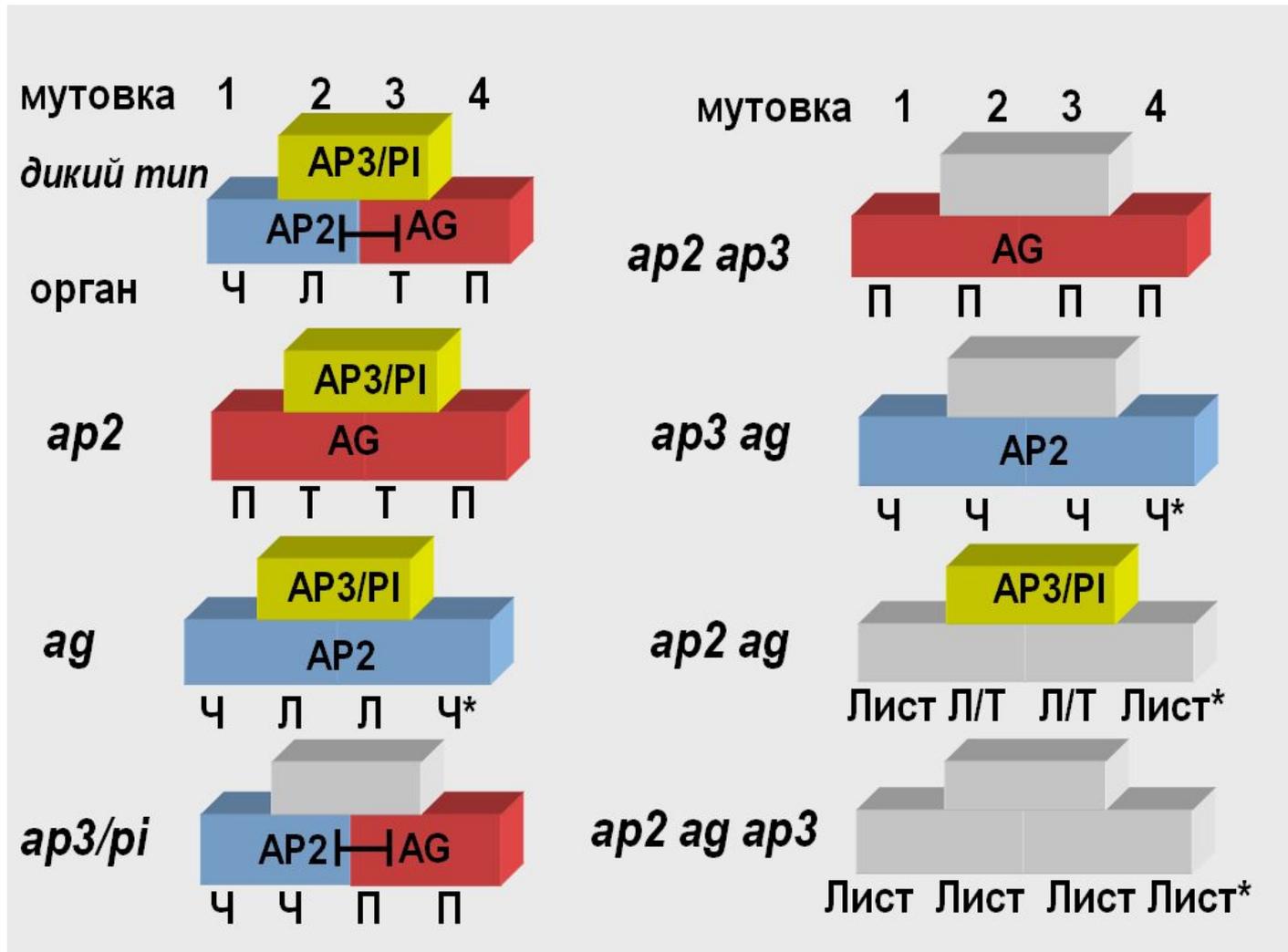
DEF, GLO

C AG

PLE

Перекрывание доменов
экспрессии
гомеозисных генов в
примордии цветка

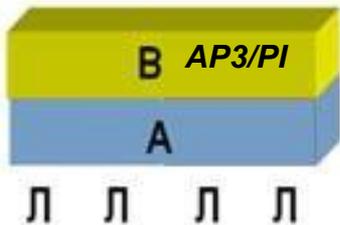
Объяснение фенотипов мутантов с нарушением развития органов цветка с помощью ABC-модели



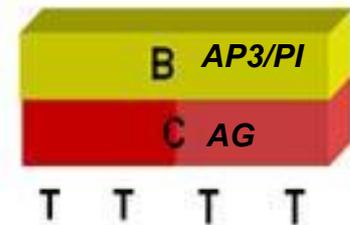
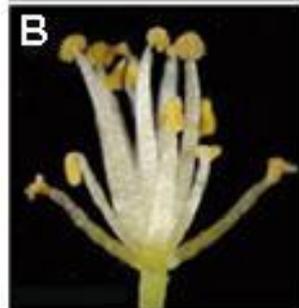
Подтверждение ABC-модели путем исследования трансгенных растений



35S::AP3 35S::PI;

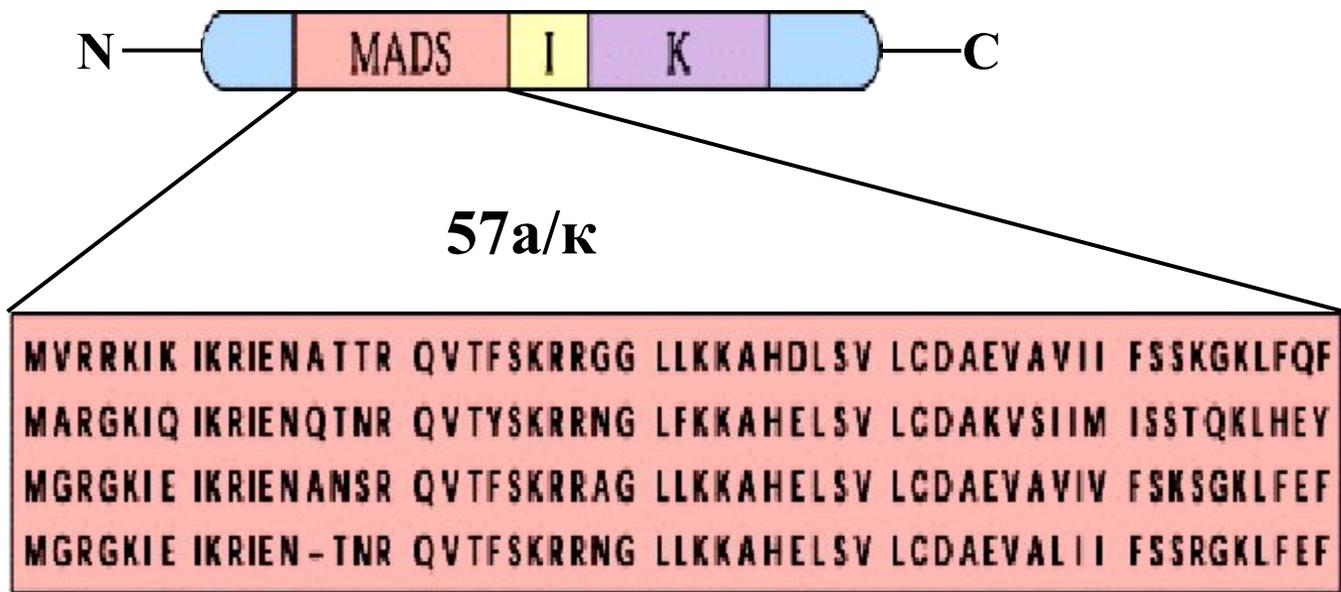


ag 35S::AP3 35S::PI



35S::AP3 35S::PI 35S::AG

Структура белков, содержащих MADS-домены

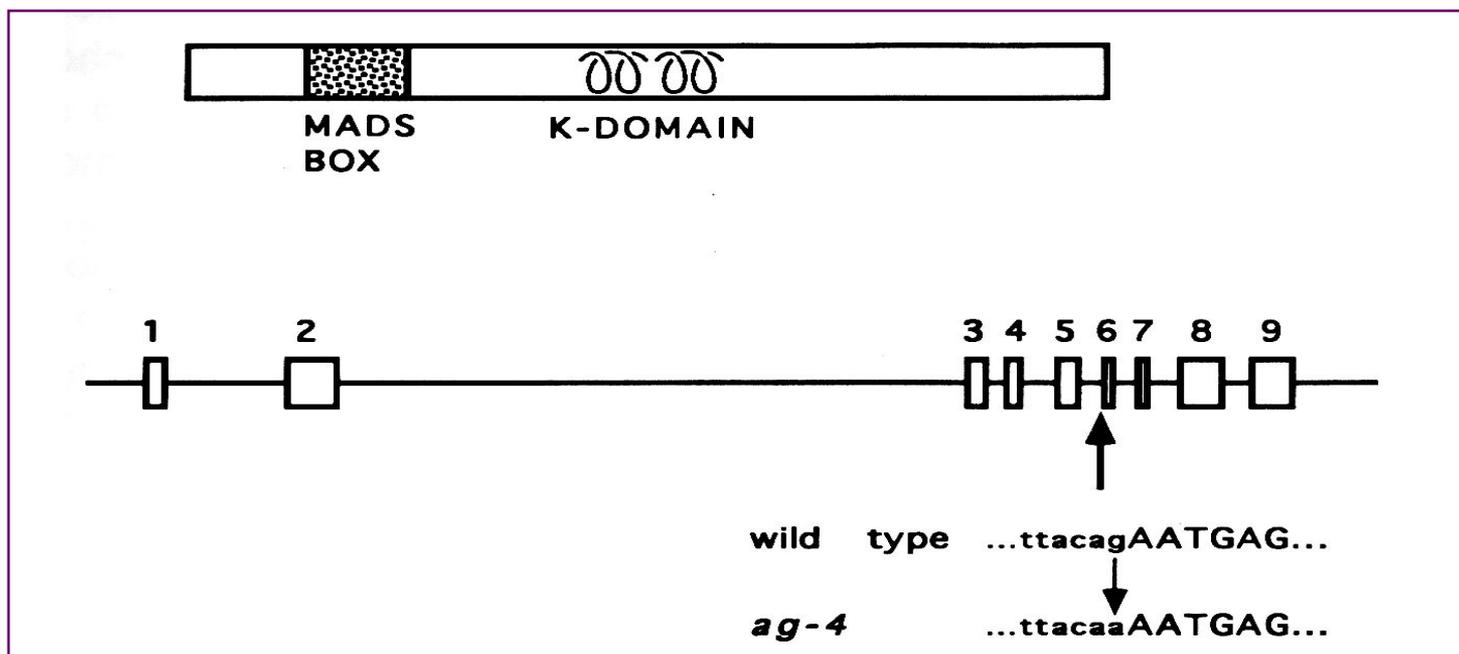


- MCM1** – регулятор транскрипции дрожжей
- AG** – гомеозисный ген резушки (класс C)
- DEF** – гомеозисный ген львиного зева (класс B)
- SRF** – регулятор транскрипции человека

MADS-гены растений

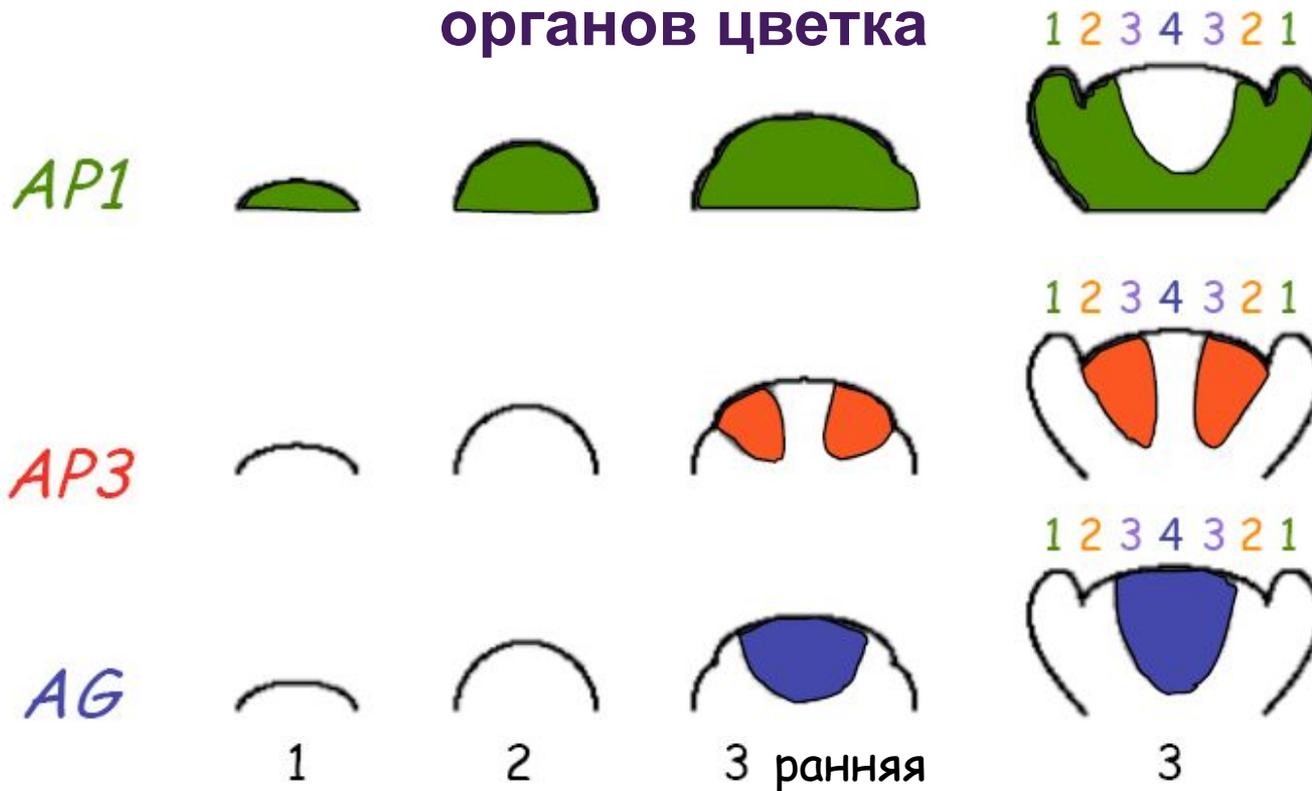


Meyerowitz, Yanofsky 1990-1995

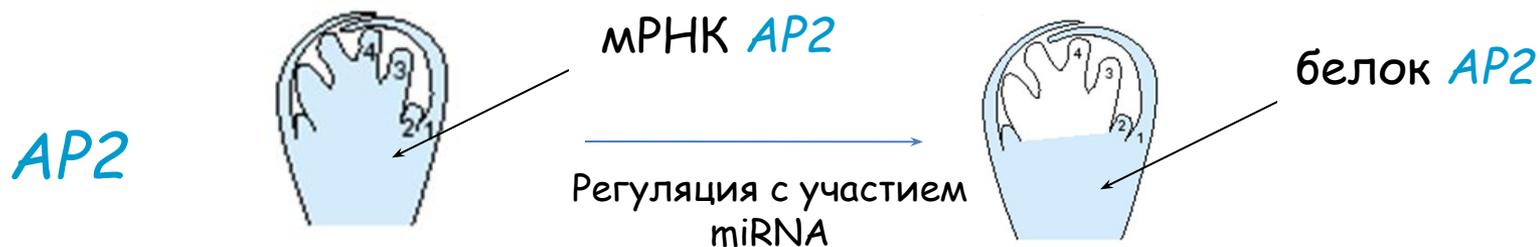


Все гены ABC-классов (кроме гена AP2) имеют структуру MADS-бокс содержащих генов типа II

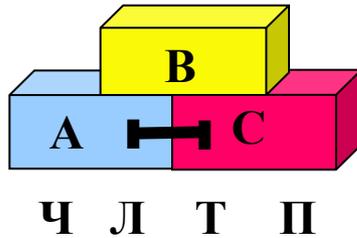
Экспрессия генов, контролирующих развитие органов цветка



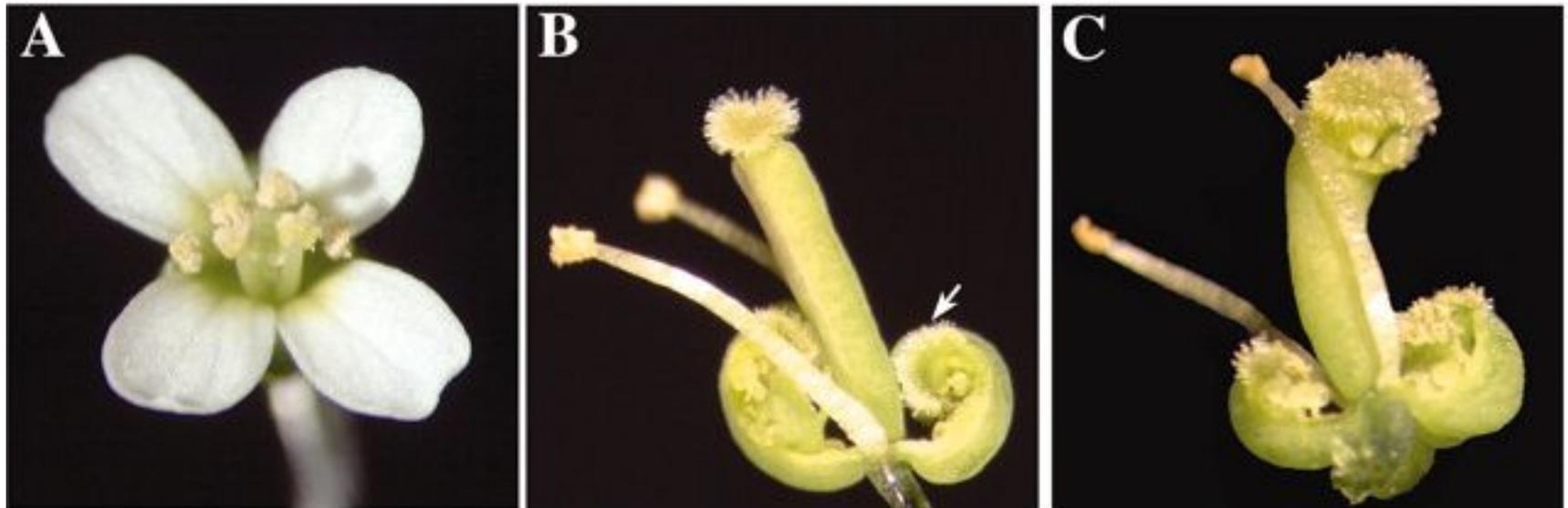
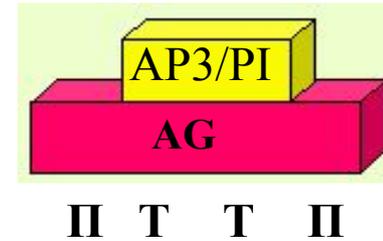
1,2,3 - стадии развития цветка



miR172 регулирует экспрессию гена AP2



Мутация *ap2*:



A. wt

B. *ap2-9*

C. 35S::MIR172a-1

Фенотип трансгенных растений 35S::MIR172a-1 повторяет фенотипическое проявление мутации *ap2-9*

miR172 регулирует экспрессию гена AP2



150 nucleotides

AP2 protein

A A A S S G F S

wild-type AP2 RNA

5' gcu gca gca uca uca gga uuc ucu 3'

miRNA172a-1, -2

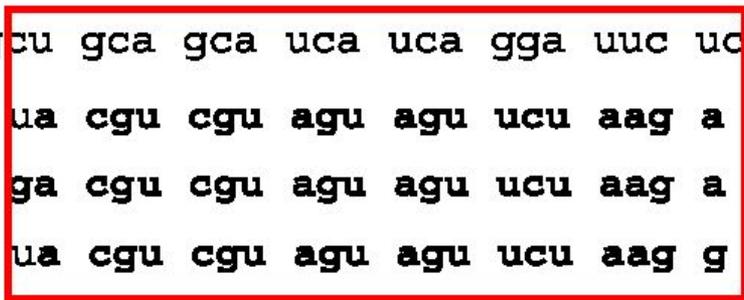
3' ua **cgu cgu agu agu ucu aag a** 5'

miRNA172b-1, -2

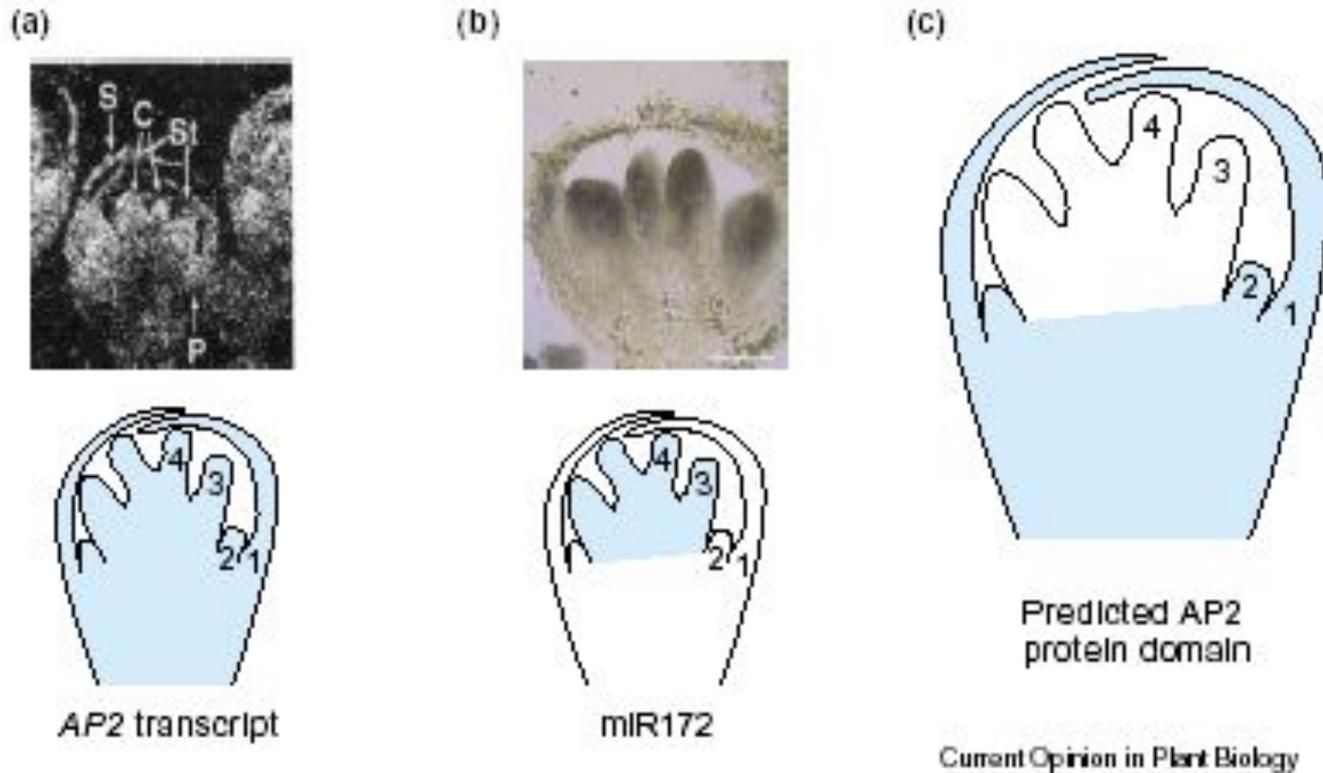
3' **ga cgu cgu agu agu ucu aag a** 5'

miRNA172c

3' ua **cgu cgu agu agu ucu aag g** 5'

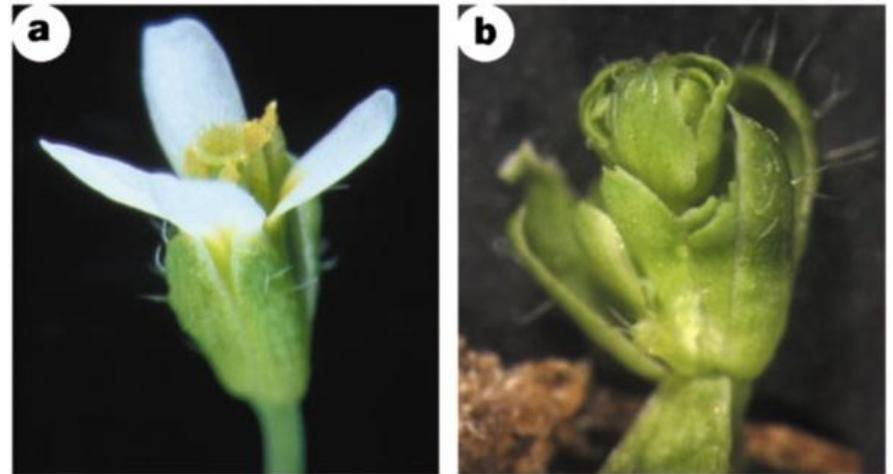
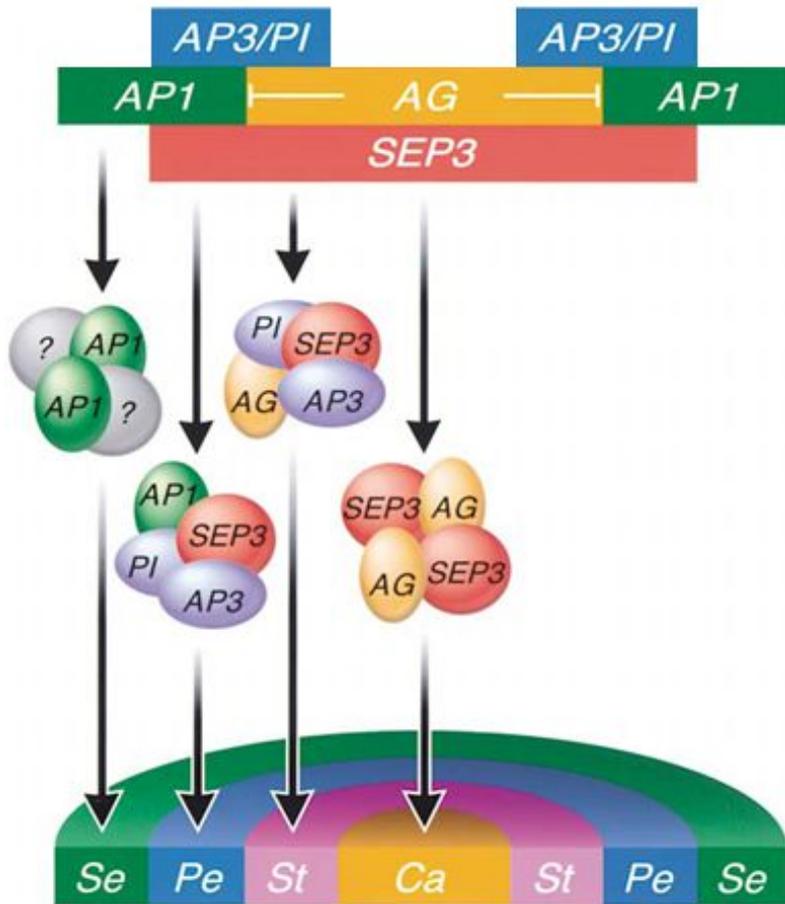


Влияние экспрессии miR172 на локализацию продукта гена AP2



- (a) Область локализации мРНК AP2 (на стадии 7 развития цветка)
- (b) Область локализации miR172 (на стадии 7 развития цветка)
- (c) Домен локализации белка AP2

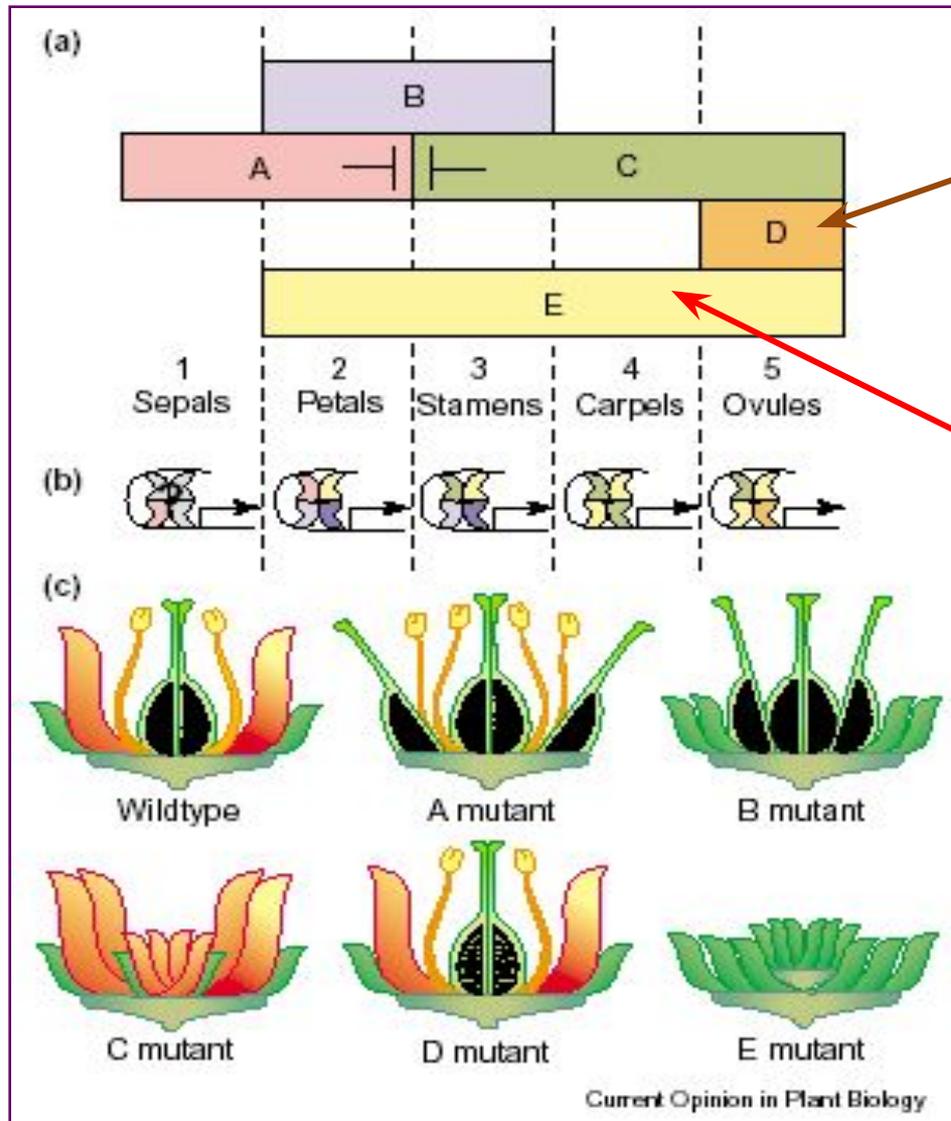
Роль генов *SEPALLATA* в развитии органов цветка



wt

sep1 sep2 sep3

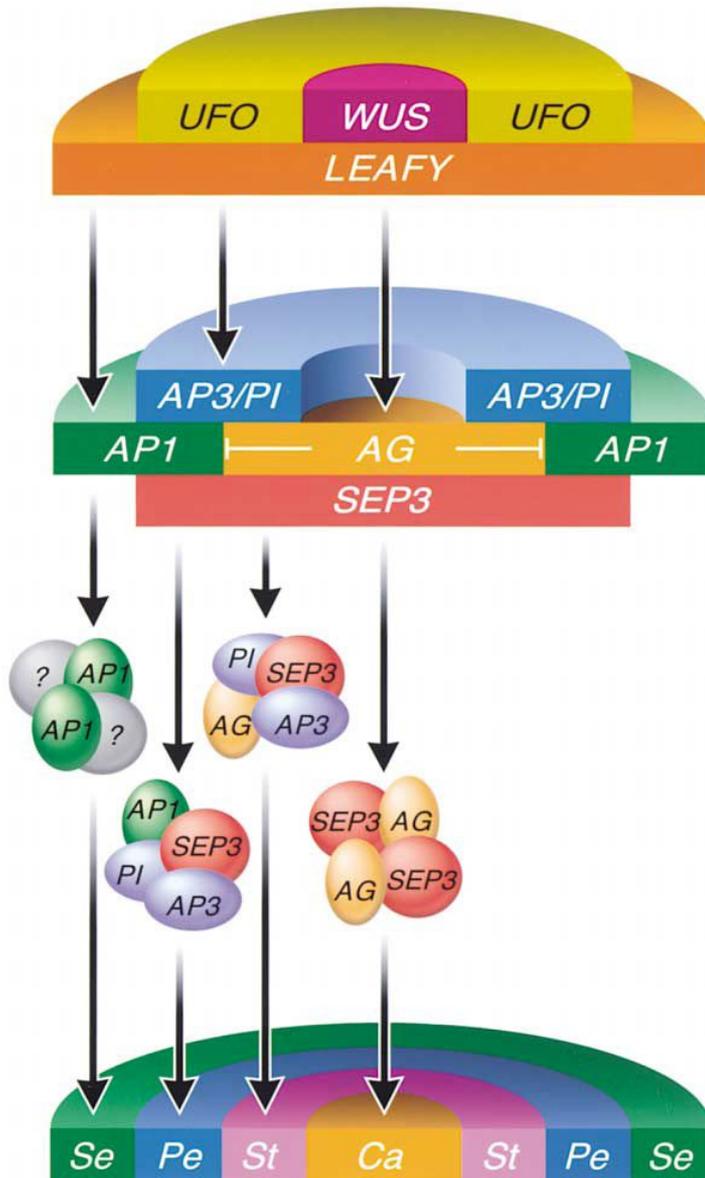
Дополненная модель развития цветка



*SHATTERPROOF 1, 2,
SEEDSTICK*

SEPALLATA 1, 2, 3, 4

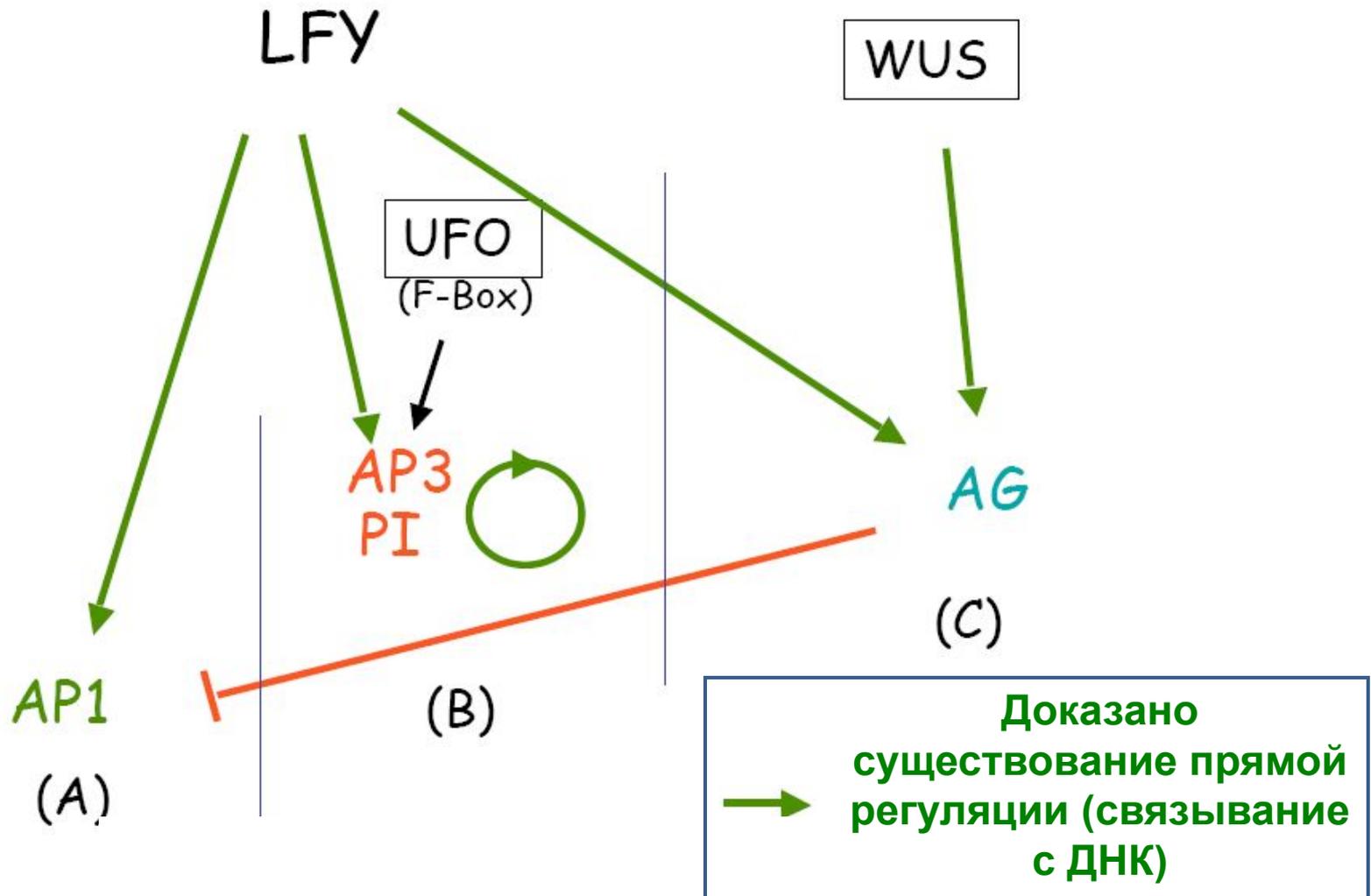
Дополненная модель развития цветка



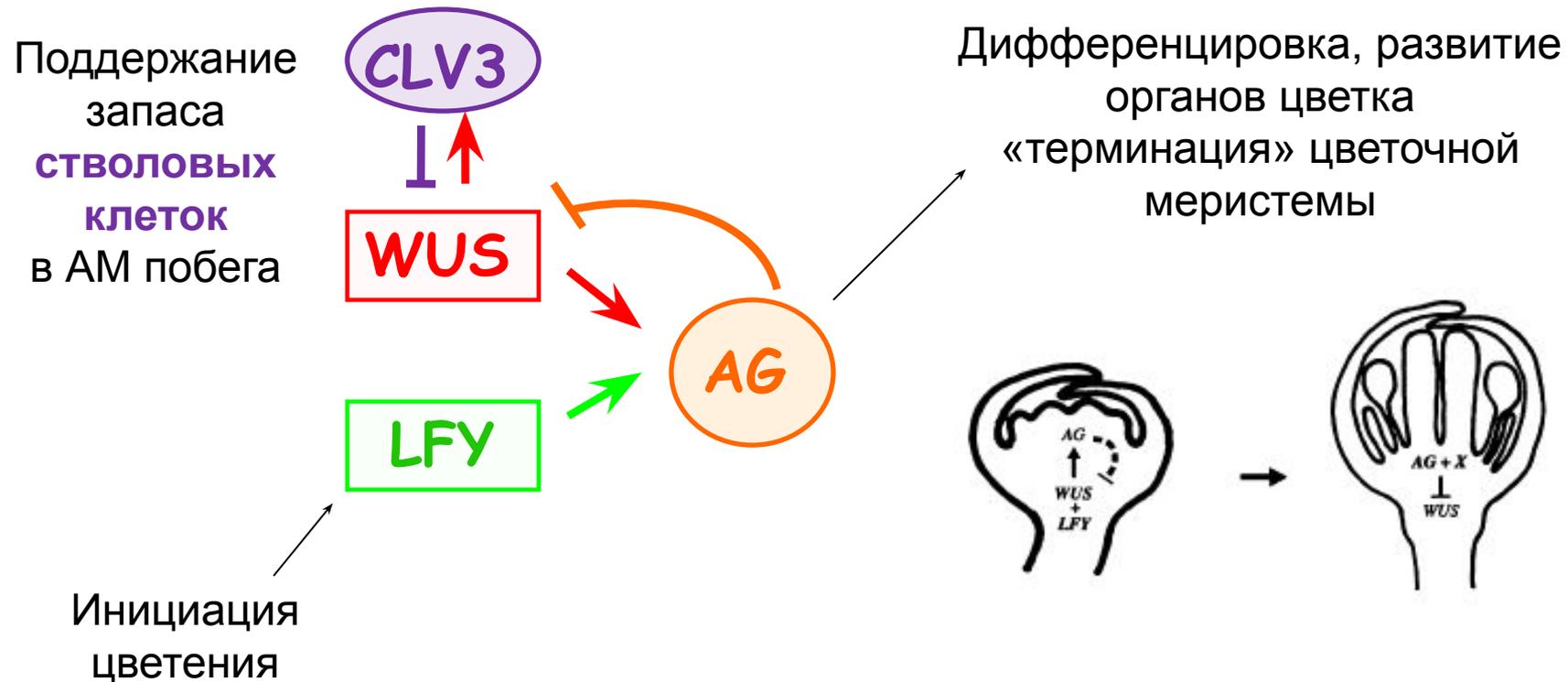
«Модель квартета»:

продукты генов
идентичности органов
цветка функционируют в
виде гетеротетрамерных
белковых комплексов

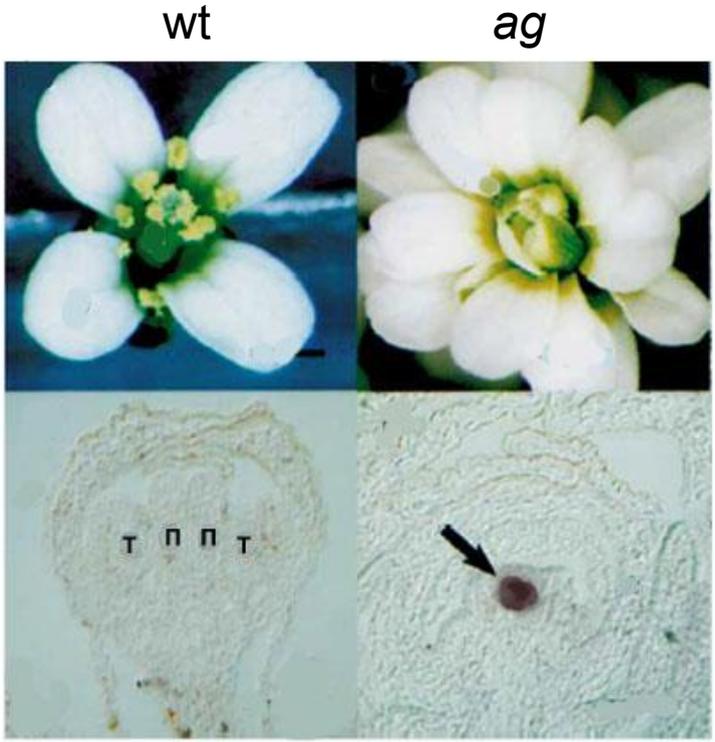
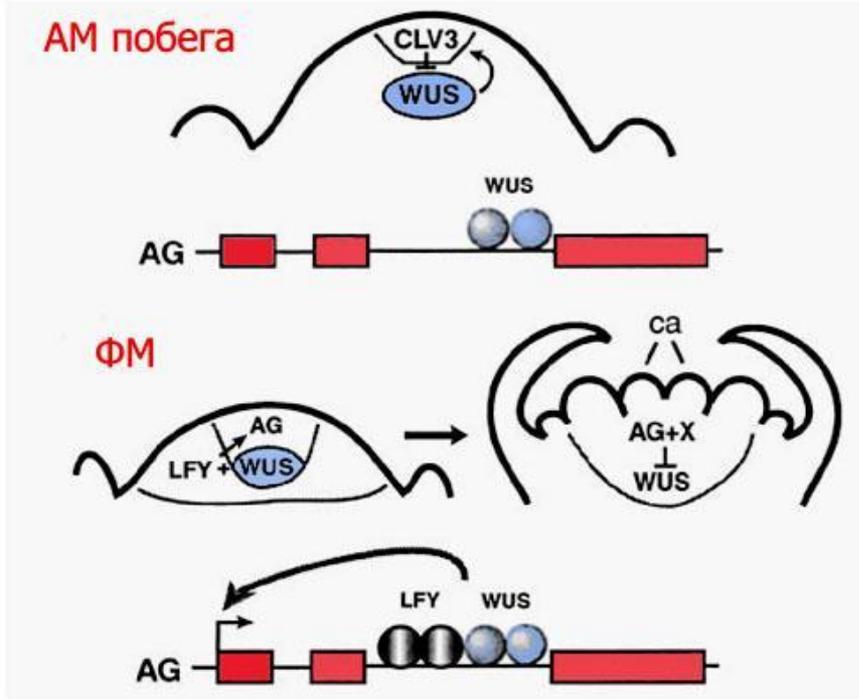
Регуляция генов, контролирующих развитие органов цветка



Переход апикальной меристемы из недетерминированного состояния в детерминированное



AG – подавляет экспрессию гена *WUS* в меристеме цветка



сохранение экспрессии *WUS* в меристеме цветка у мутанта *ag*

Кадастровые гены определяют пространственные границы «кругов»:

C2H2 белки с «цинковыми пальцами»

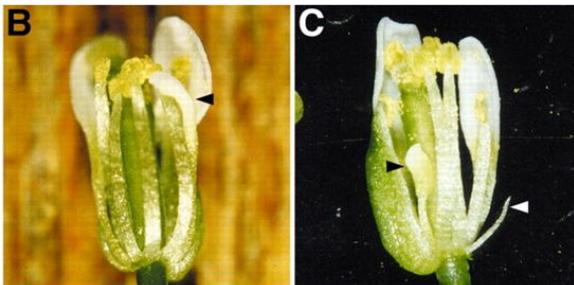
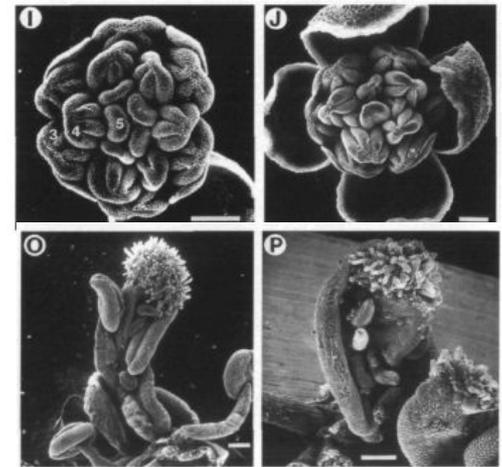
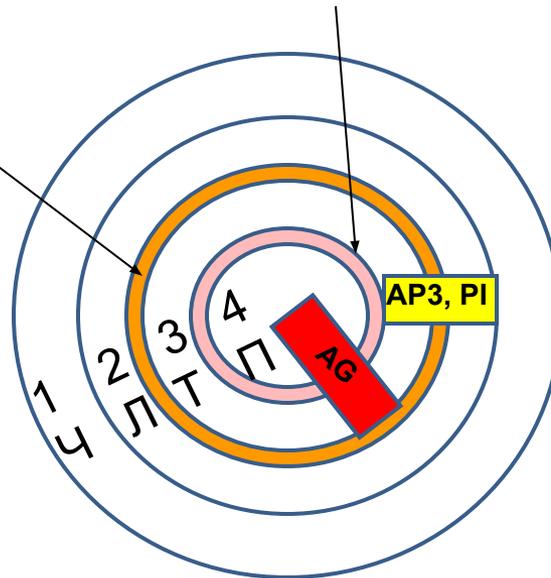
AG AP3, PI
SUPERMAN (SUP)

RABBIT EARS (RBE)

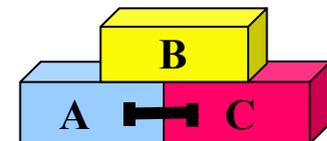
AG

Фенотип мутации по гену *RBE*

Фенотип мутации по гену *SUP*



Круг 1 2 3 4

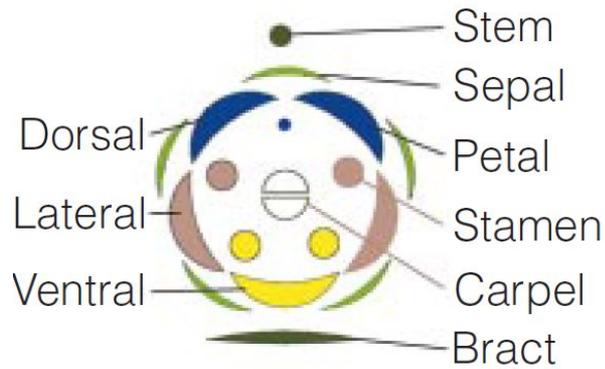


Орган Ч Л Т П

Наследуемые «эпимутации»: варианты цветка у *Linaria vulgaris*



зигоморфный
(дикий тип)



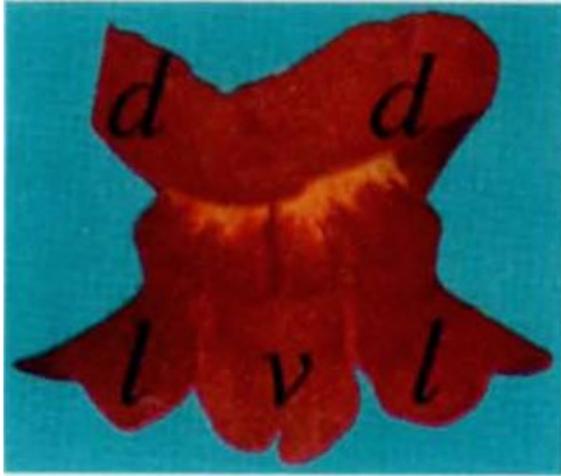
актиноморфный
(пелорический)



Образец пелорического цветка из гербария К. Линнея (1744 г.)



Мутации в генах *CYCLOIDEA* и *DICHOTOMA* у *Antirrhinum* приводят к появлению пелорических цветков



дикий тип



cycloidea



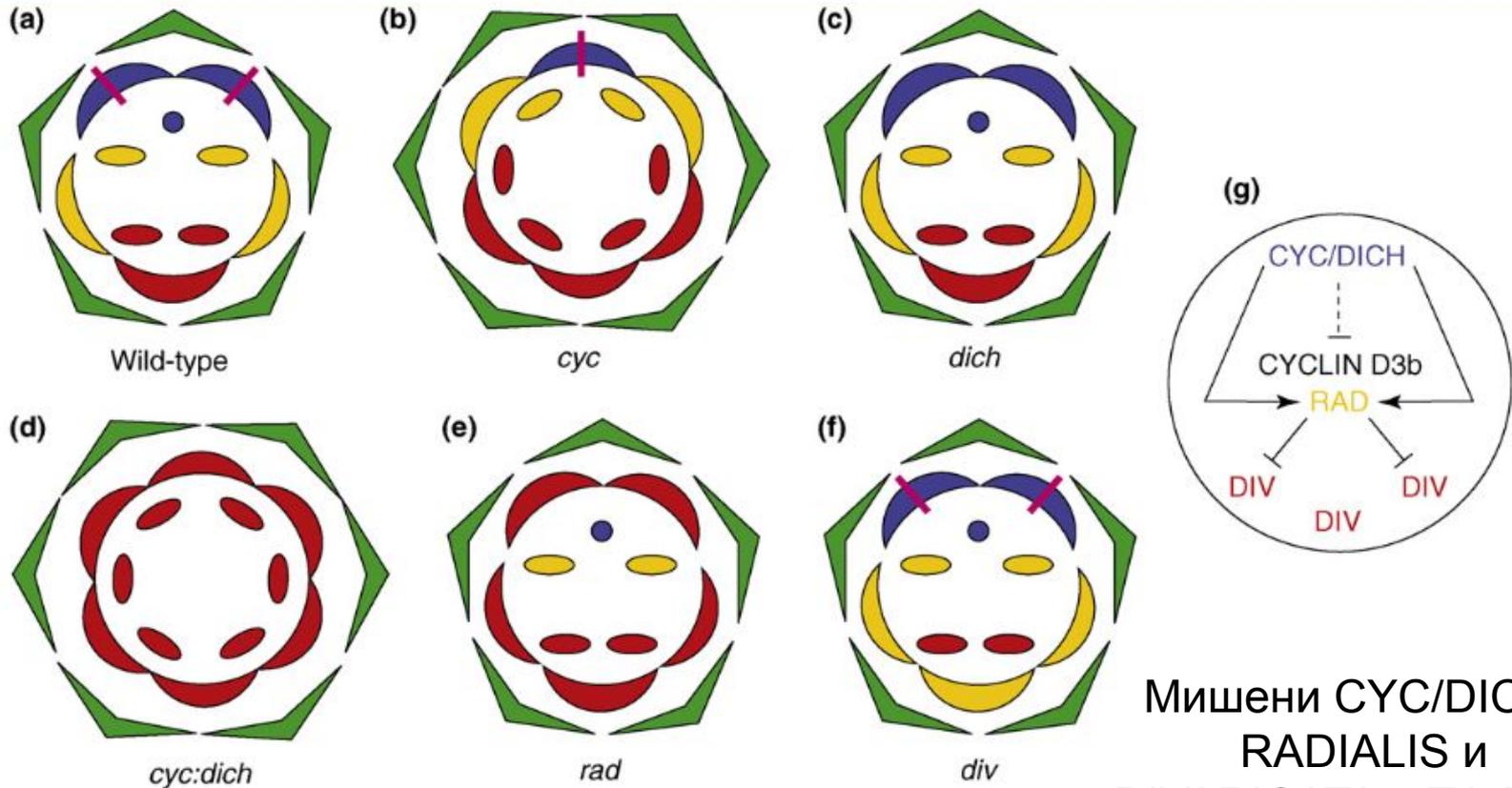
*dichotoma
cycloidea*

DICHOTOMA
CYCLOIDEA

- кодируют ТФ из семейства ТСР, определяют скорость инициации и развития примордиев органов цветка

Luo et al., 2005

Роль ТФ CYCLOIDEA и DICHOTOMA в формировании симметрии цветка



Мишени CYC/DICH -
 RADIALIS и
 DIVARICATA – ТФ МЫВ,
 регулирующие
 идентичность
 дорзального и
 вентрального домена
 зигоморфного цветка

У растений с пелорическими цветками *Linaria vulgaris* показано наследуемое метилирование локуса *Lcsuc* («эпимутация»)

Анализ метилирования в локусе *Lvsuc* у пелорических «мутантов» льнянки с помощью чувствительных к метилированию рестриктаз *Sau3A* и *MboI*

```

301           M F G K N T Y L H L
961 CCTCATCAGGTTTCAACCTCTCTTAACCTCTCGTGCCGTTGTTGACCTAAACGGCAACGAG
321 P H Q V S T S L N S R A V V D L N G N E
1021 ATCCAACTCCATCTCCAGCATCACCACCACGACATACTCTCCGGTCATTACTTGACCAAC
341 I Q L H L Q H H H H H D I L S G H Y L T N
1081 GGTCTGTCTTCTGAGTCCACAGCCTTGTTCACCACTTCAACAATCAACATGTTGTTAGT
361 G P V L E S T A L F N N F N N Q H V V S
1141 CACGGGATGAACTGCCATGATCCTGATCCTGCCAATATGGCAGAAACATTCCAAACCAAA
381 H G M N C H D P D P A N M A E T F Q T K
1201 CAAAGTACTGTGAAAAGGACCCGGCACAGCAAGATATACACTGCTCAAGGGCCGAGAGAC
401 Q S T V K K D R H S K I Y T A Q G P R D
1261 AGGAGAGTTCGTCGTCCATCGGCATTGCAAGGAAGTTCCTTTGATCTACAAGAGATGCTA
421 R R V R L S I G I A R K F P D L Q E M L
1321 GGTTTCGACAAGCCAAGCAAGACCCTCGACTGGCTCCTTACTAAGTCGAAAACAGCCATA
441 G F D K P S K T L D W L L T K S K T A I
1381 AAAGAGCTAGTGCAGTCCAAAAGTACGAGAGCAATTCITCTAATTCCTCATCTGATGAT
461 K E L V Q S K S T K S N S S N S H S D D
1441 GATTGTGATGATGAGGTTGTGTCTGCCGAAGGAGATTCTGAGAACGCTGCAGATTGGAAG
481 D C D D E V V S A E G D S E N A A D S K
1501 GGGAGTCCGGTCTTATAAAAAGGTAAC TACA AATGTAAGAAGCTGCTTCTGCAATGGAT
501 G K S V L I K G N Y K C K E A A S A M D
1561 TCTCAACAAGCAGCACTCAATCTCGTGAAGAGTCGAGGGCAAAGGGCAGAGCAAGAGCT
521 S Q Q A A L N L V K E S R A K A R A R A
1621 AGGGAAGAACAAGGAGAAAATGTGTATCAAAACAACACTGAATGAAGCTAGGAACAAC
541 R E R T K E K M C I K Q L N E A R N N
1681 AACAAAGGGTGGTGAAGTCAATAATCCCTTCAACAATGTAATCCAGTCTAACAGGAAC
561 N K G G D W I N N P F N N V I Q S N R N
1741 CATCAACAGTTCGAAAAGTCGCGAGGGCGGCATTGTTTCATCATCCGGTTTTTGGGTTTCAT
581 H Q Q F E S R E A A F V H H P V F G F H
1801 CAGCAAACTACAGCAACGCATCTGCCCTCTCATGAGAACTGGGATCAGTCGAACCGAG
601 Q Q N Y S N A S A S S H B N W D Q S N Q
1861 CTATGCGCCATTTTGAATCAGCACAAGTTCATCAATTAGGTAAGAAGAAGAAATTA
621 L C A I L N Q H K F I N *
    
```

Соматическая нестабильность пелорического фенотипа коррелирует с деметилированием в локусе *Lcsuc*



Гипермети́лирование локуса *SUPERMAN* у «эпимутантов» *clark kent* (*clk*)



ДИКИЙ ТИП

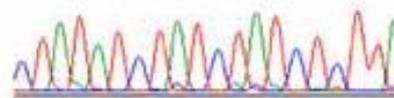
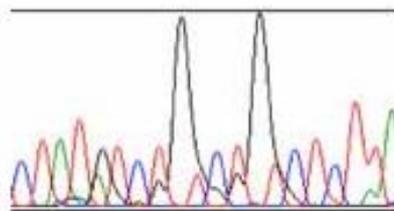
superman

clark kent

clark kent allele
hypermethylated SUP gene

wild type allele
unmethylated SUP gene

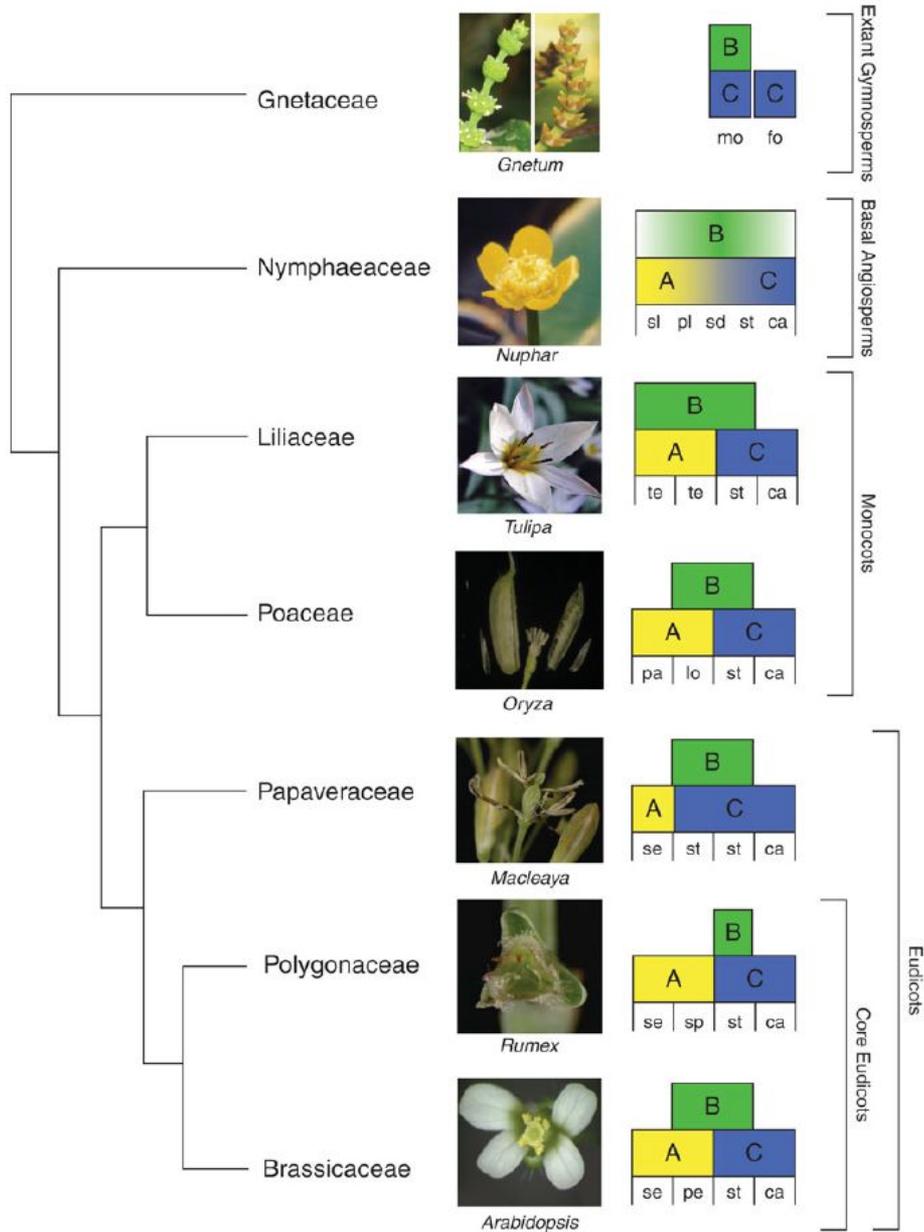
C T A T G T C T G T C T G T C T C T T A



Bisulfite Sequencing Traces

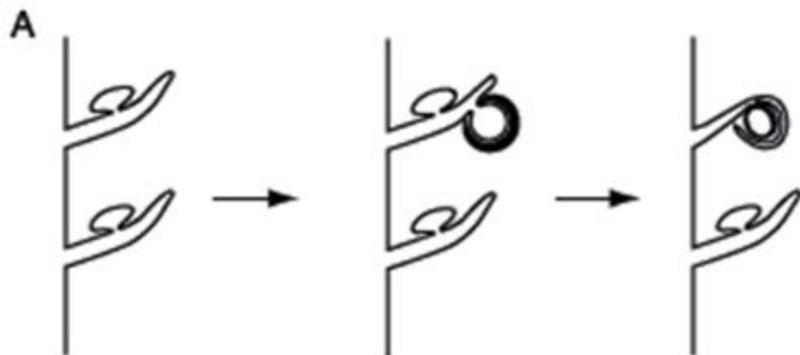


Эволюция регуляции развития цветка

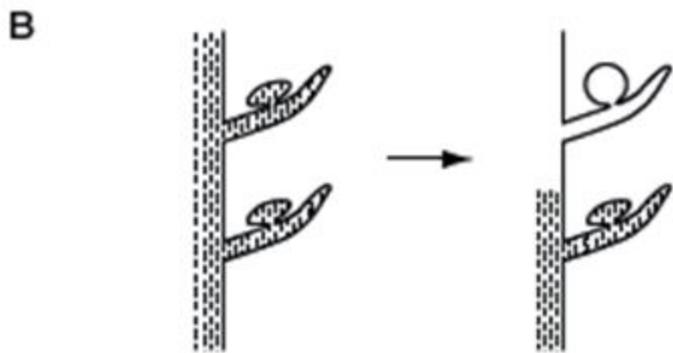


Theissen and Melzer, 2007

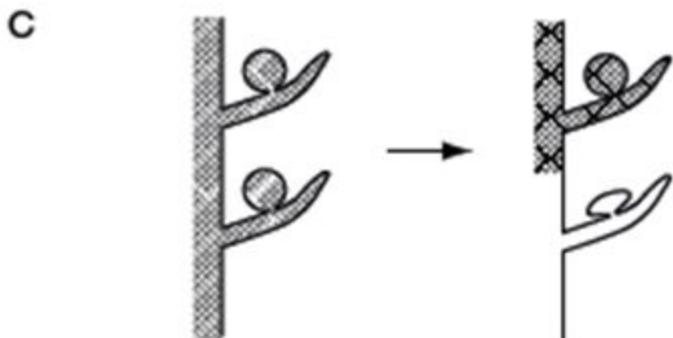
«mostly-male» theory



«out-of-male» theory



«out-of-female» theory



Модели, объясняющие формирование в ходе эволюции обоеполого цветка

Зависимость экспрессии «мужских» и (C+V) и «женских» (C) генов от градиента продукта гена *LFY*

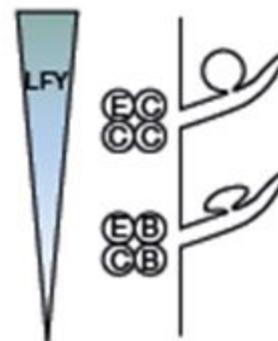
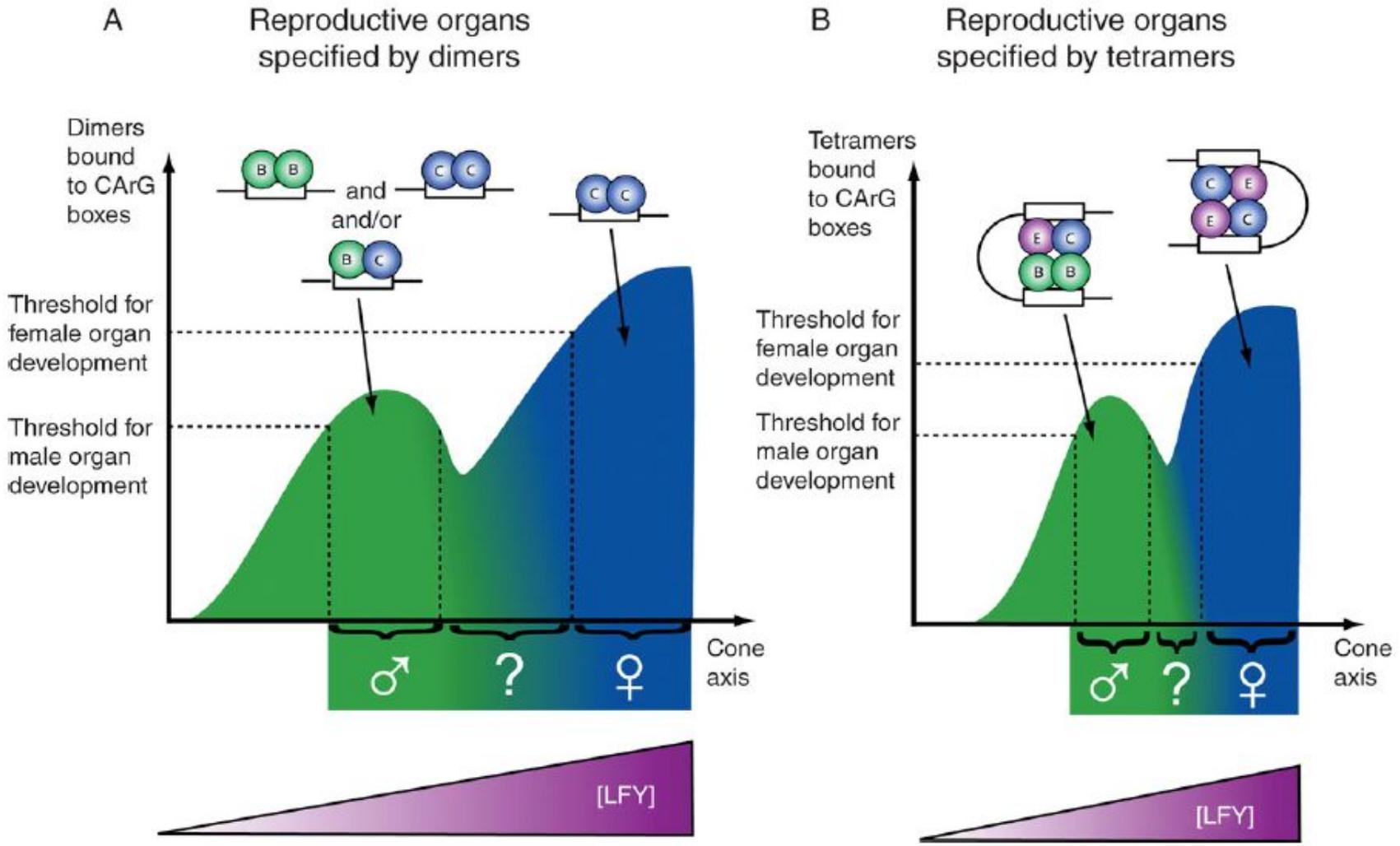


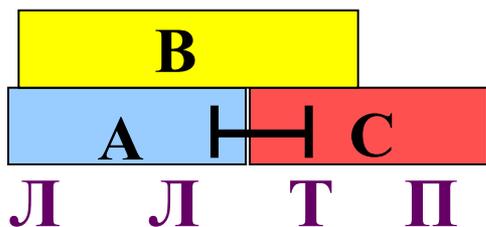
Fig. 1. Hypotheses for the origin of the flower and its carpel. (A) According to the Mostly-Male Theory (Frohlich, 2003), ectopic ovules formed on previously male sporophylls and, in a second step, these sporophylls lost their microsporangia and closed around the ovule to form the carpel. The outer integument of the angiosperm ovule (thick line) was formed from a pre-existing female cupule structure. (B) According to the Out-of-Male hypothesis (Theissen *et al.*, 2002), the basipetal movement of male-determining B-function MADS box gene expression (shaded area) in a male strobilus left female structures at the apex, which later became carpels. (C) According to the Out-of-Female hypothesis (Theissen *et al.*, 2002), the acropetal movement of B-sister MADS box gene expression (shaded area) in a female strobilus left male structures at the base, which later became stamens. Female structures at the apex became carpels. (D) According to the hypothesis of Baum and Hileman (2006), a temporal switch in the regulation by *LFY* of B- and C-function MADS box genes occurred in an ancestor of the flowering plants. This change generated high concentrations of C-function-rich MADS box complexes at late developmental stages, causing the patterning of the strobilus into apical female and basal male reproductive structures, and these later became carpels and stamens, respectively.

Модель, объясняющая распределение областей экспрессии «мужских» и (класс C+V) и «женских» (класс C) генов в зависимости от градиента продукта гена *LFY*

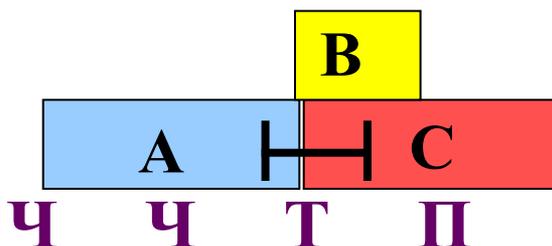


Мутации в ABC- генах приводят к формированию цветков разной структуры за счет изменения характера экспрессии этих генов (изменения доменов экспрессии в результате изменения уровня экспрессии, нарушения взаимодействий с другими регуляторными белками)

Можно предполагать, что именно изменения характера экспрессии консервативных генов ортологов ABC лежат в основе всего разнообразия форм цветка покрытосеменных

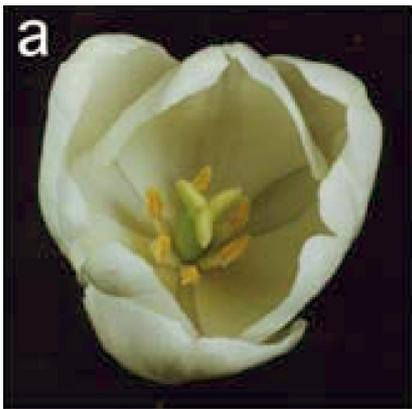
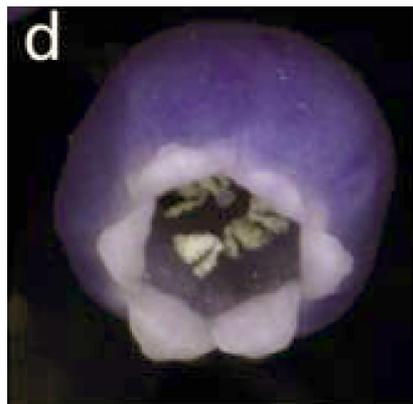


Цветки с двойным венчиком (лилейные)

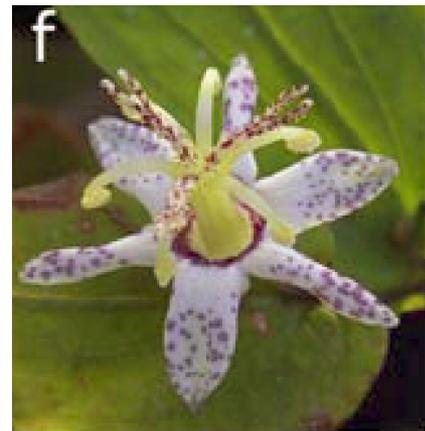


Цветки с двойной чашечкой

Формирование цветков однодольных (Лилейные)



Модифицированная модель



Гены класса В

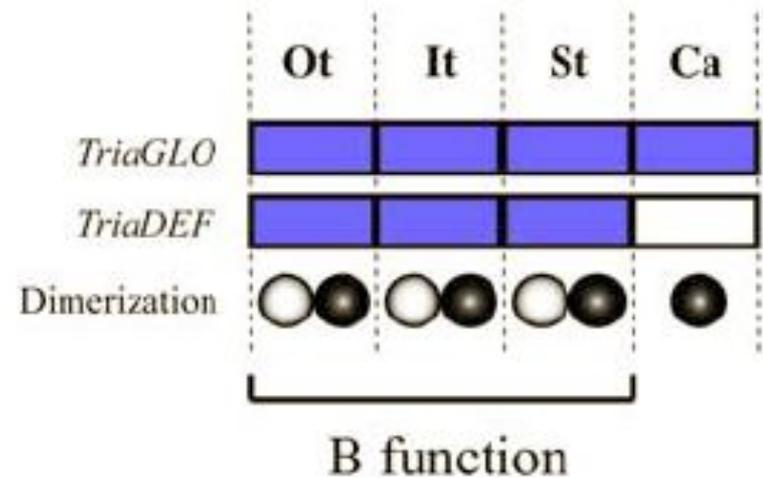
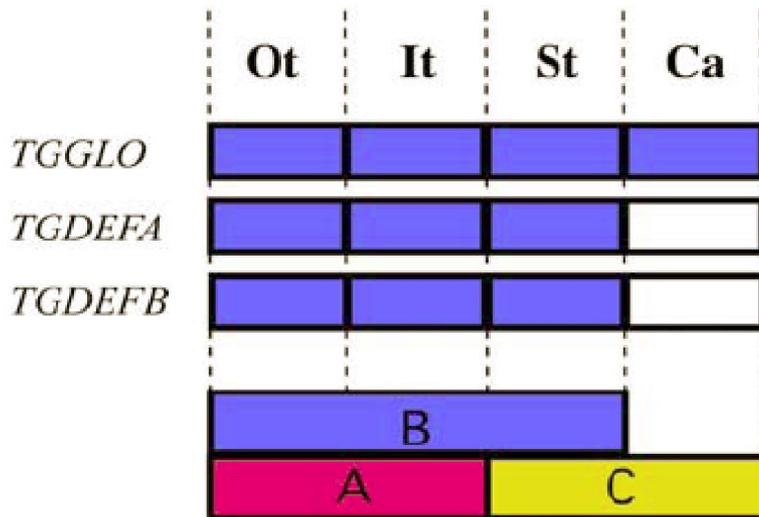
	<i>DEF</i> -подобные гены	<i>GLO</i> -подобные гены
<i>Tulipa gesneriana</i>	<i>TGDEFA, TGDEFB</i>	<i>TGGLO</i>
<i>Lilium regale</i>	<i>LRDEF</i>	<i>LRGLOA, LRGLOB</i>
<i>Lilium longiflorum</i>	<i>LMADS1</i>	?
<i>Tricyrtis affinis</i>	<i>TriaDEF</i>	<i>TriaGLO</i>

Экспрессия генов класса В

*Tulipa
gesneriana*



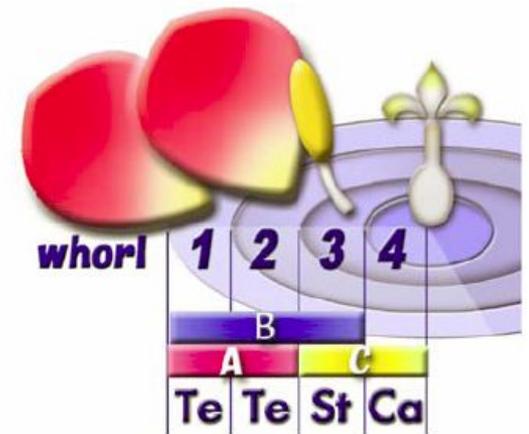
*Tricyrtis
affinis*



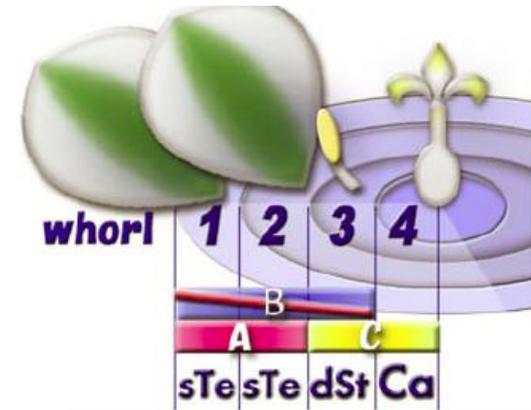
Asparagales:

***Phalaenopsis equestris*, *Dendrobium crumenatum*,
*Agapanthus praecox***

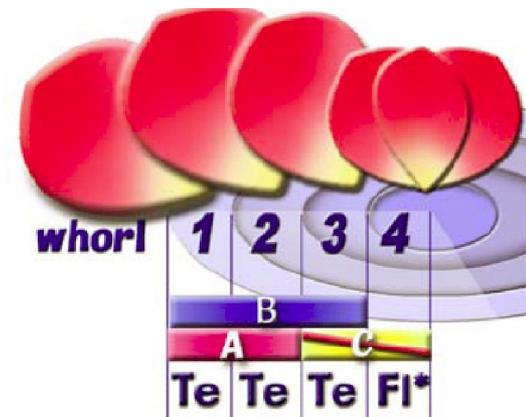
Tulipa gesneriana
дикий тип



Мутация *viridiflora*



Double-flowered



Нерешённые вопросы модифицированной ABC модели



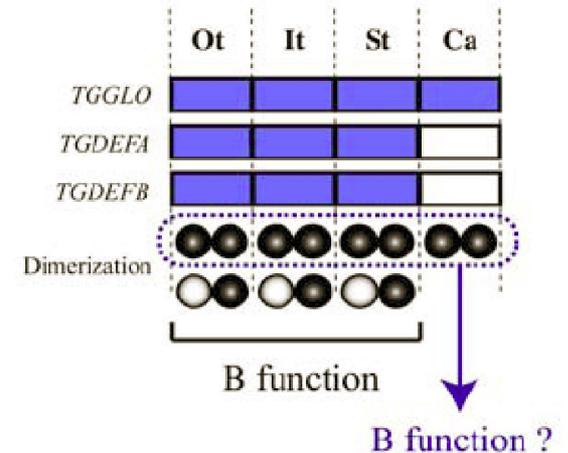
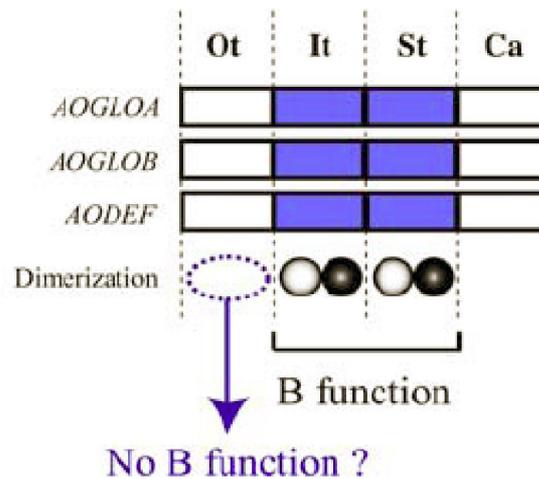
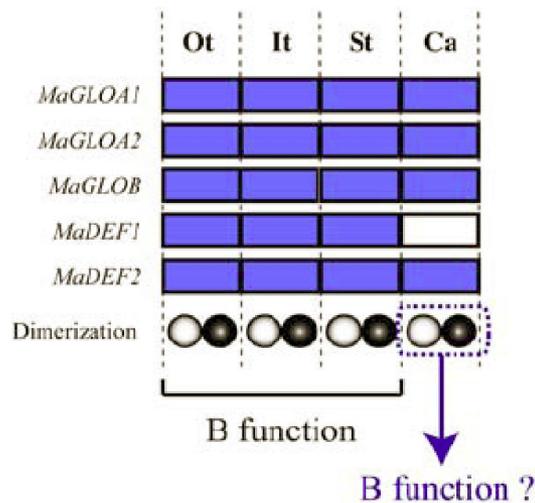
Muscari armeniacum



Asparagus officinalis



Tulipa gesneriana



Формирование цветков однодольных (Злаки)

