

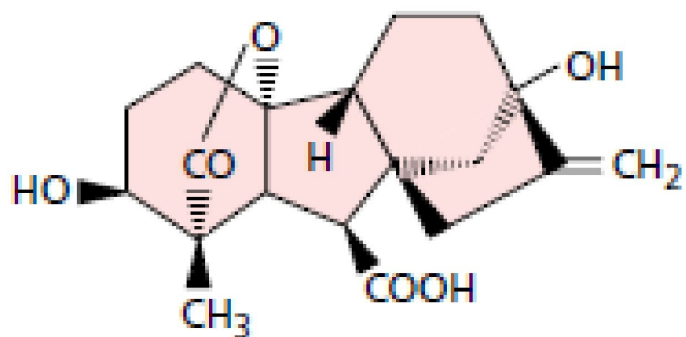
Генетика развития растений

Развитие =
рост + дифференцировка

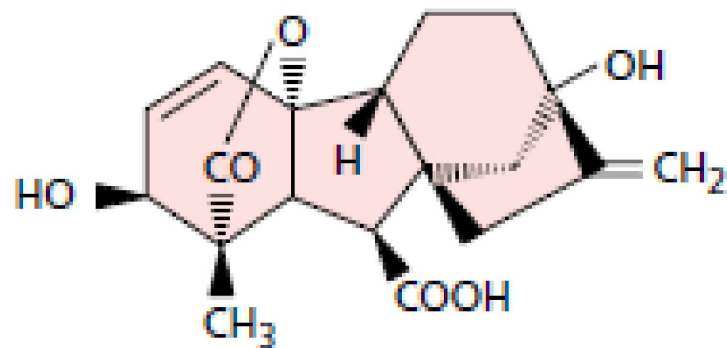
Развитие клетки,
ткани, органа
(морфогенез)

Гиббереллины

Гриб *Gibberella fujikuroi*

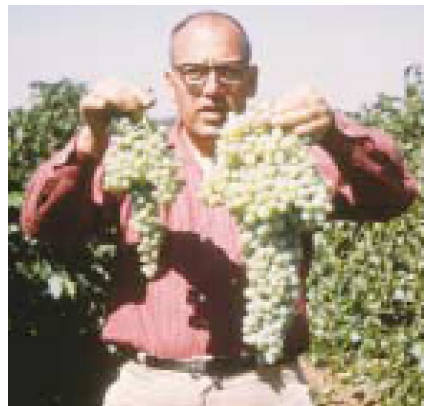


Gibberellin A₁ (GA₁)



Gibberellic acid (GA₃)





Гиббереллины – стимуляторы вегетативного и генеративного развития

Мутанты по гиббереллинам - карлики

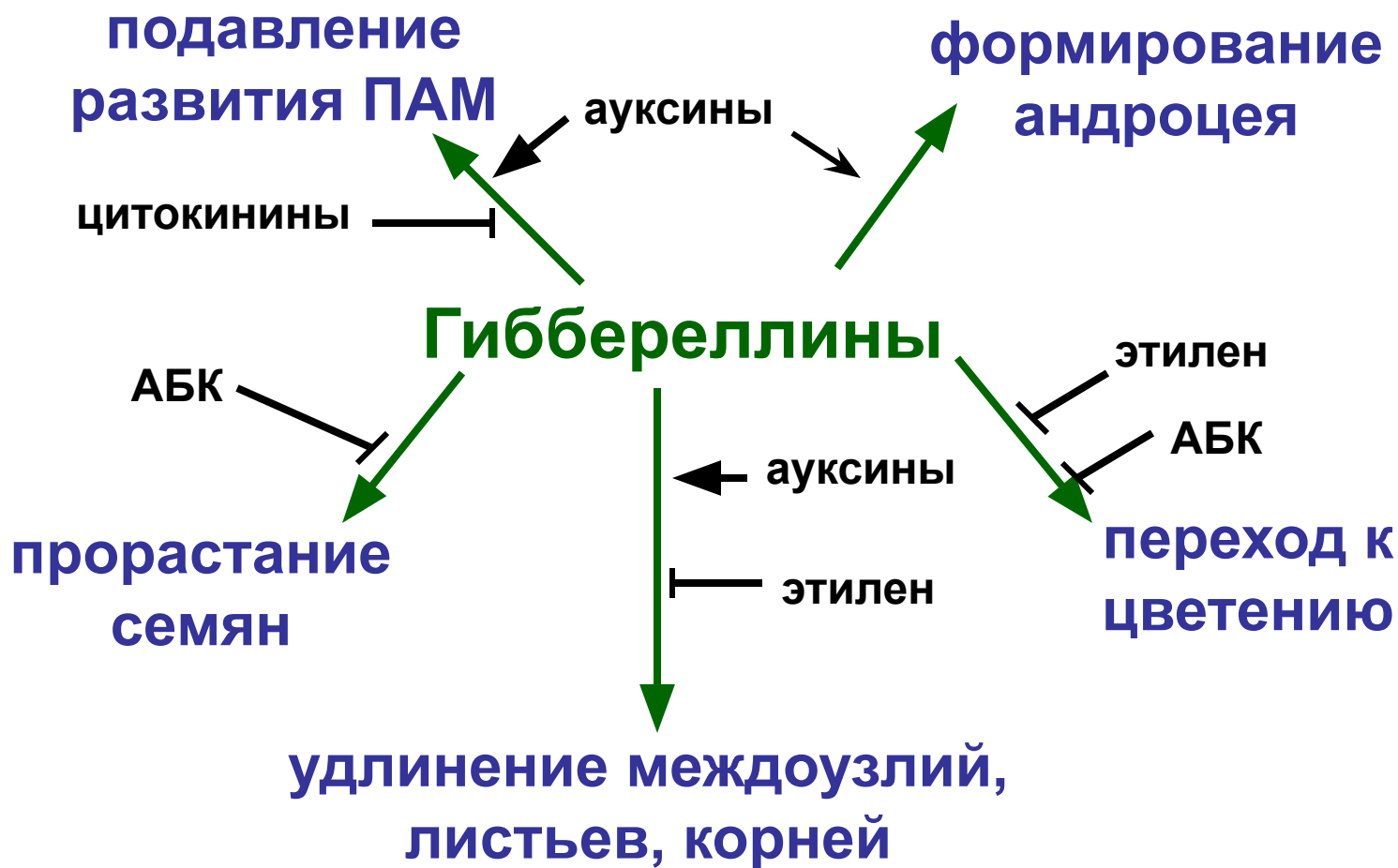


Гиббереллин-чувствительные – мутанты по синтезу

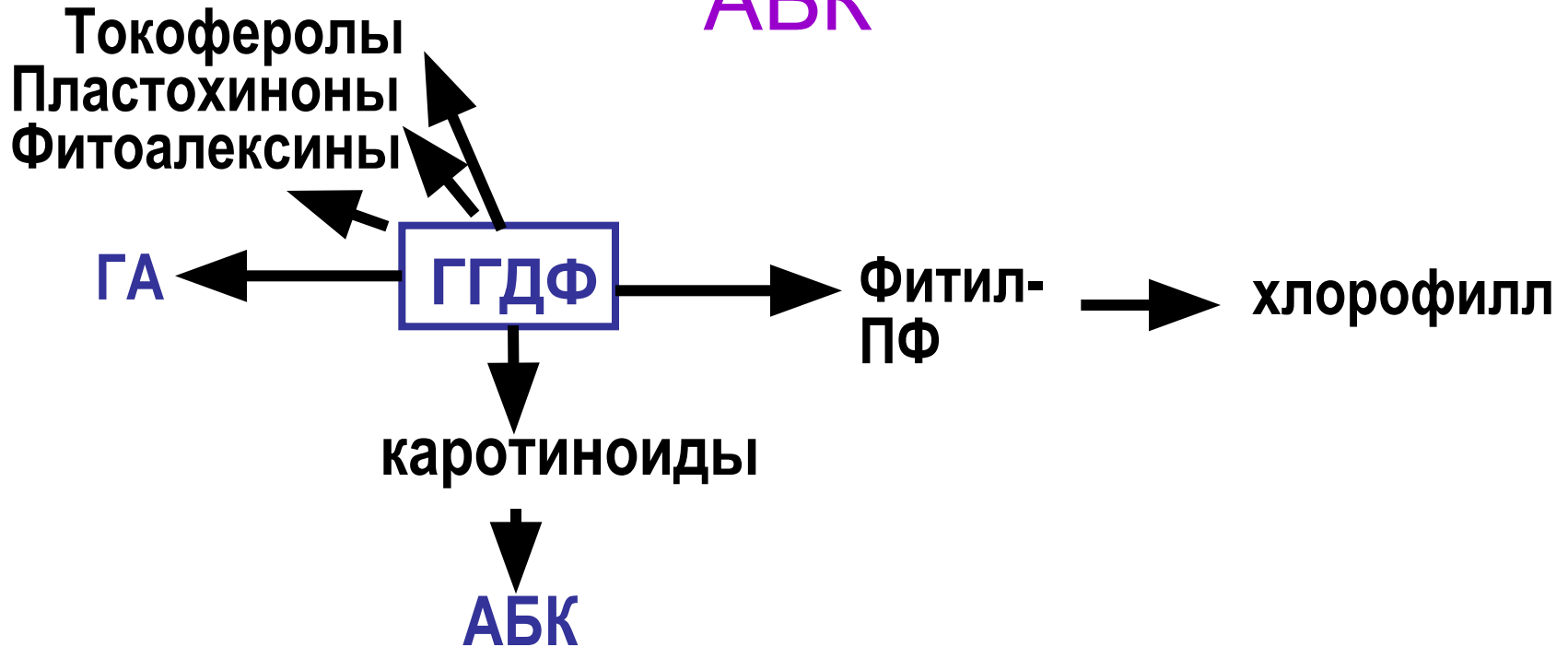


Гиббереллин-нечувствительные – мутанты по сигналингу

Функции гиббереллинов и их взаимодействие с другими фитогормонами

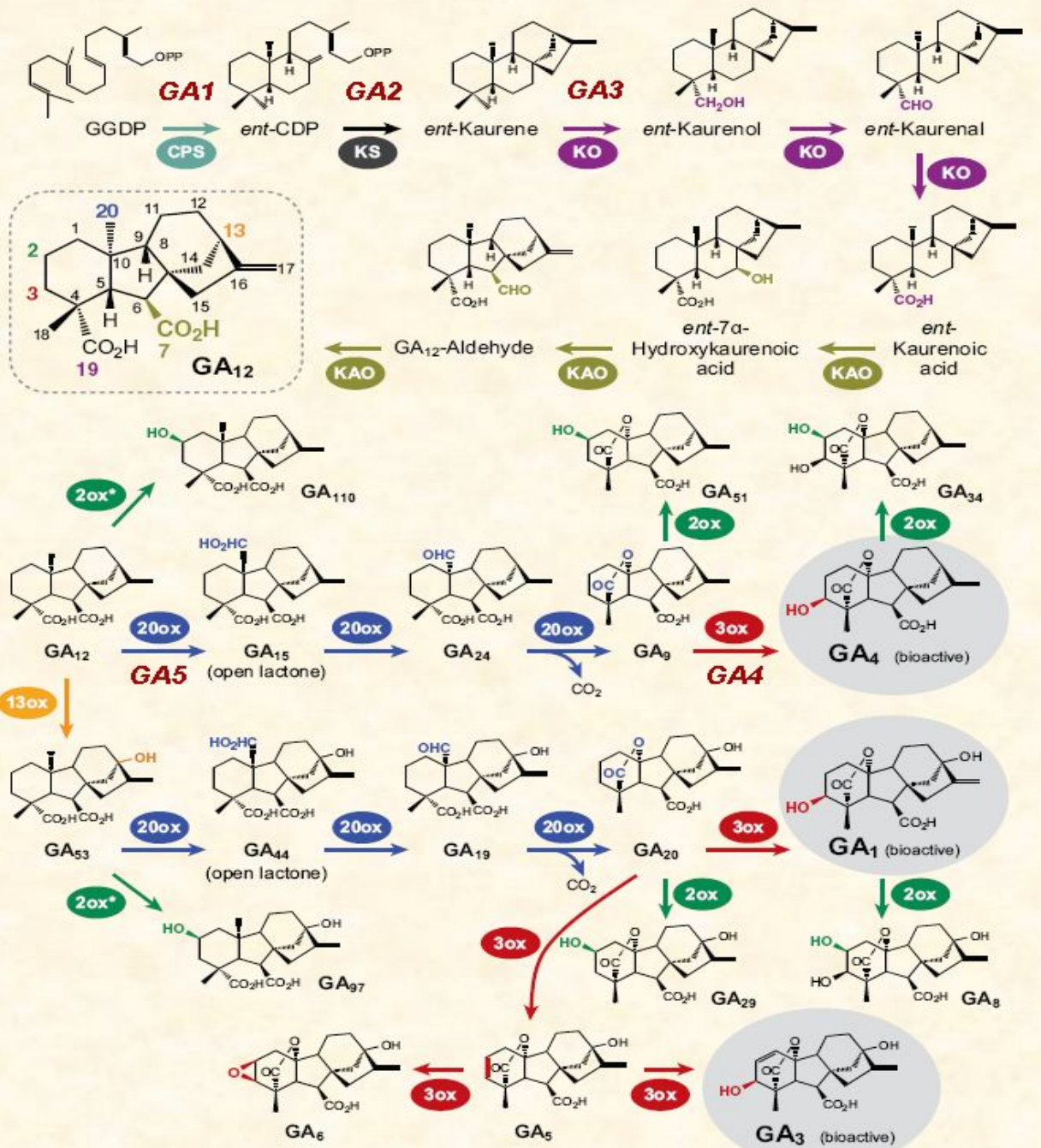


Связь биосинтеза гиббереллинов и АБК



1. Предшественником ГА является геранил-геранил-дифосфат (ГГДФ) (в-во из класса терпенов). Оно же является предшественником АБК и хлорофилла
2. Начальные этапы синтеза ГА происходят главным образом в пропластидах, конечные этапы - в цитоплазме.
3. У *A.thaliana* обнаружено 6 генов ГГДФ-синтазы (2 работают в пластидах, 2- в митохондриях, 2 – в цитозоле (ЭР)).

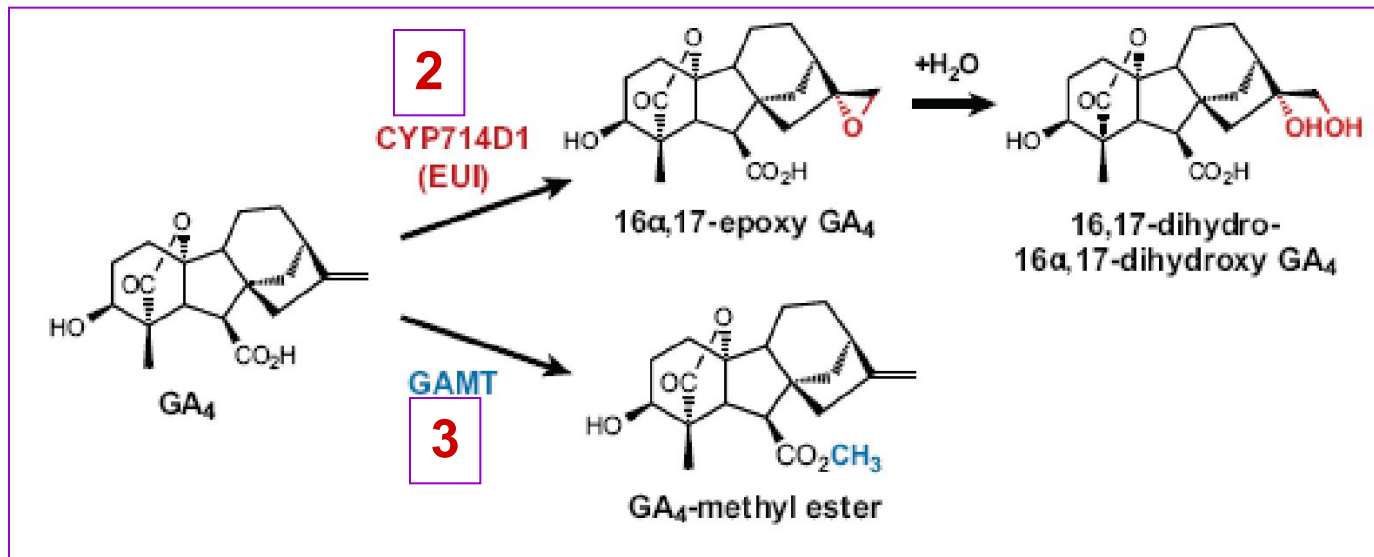
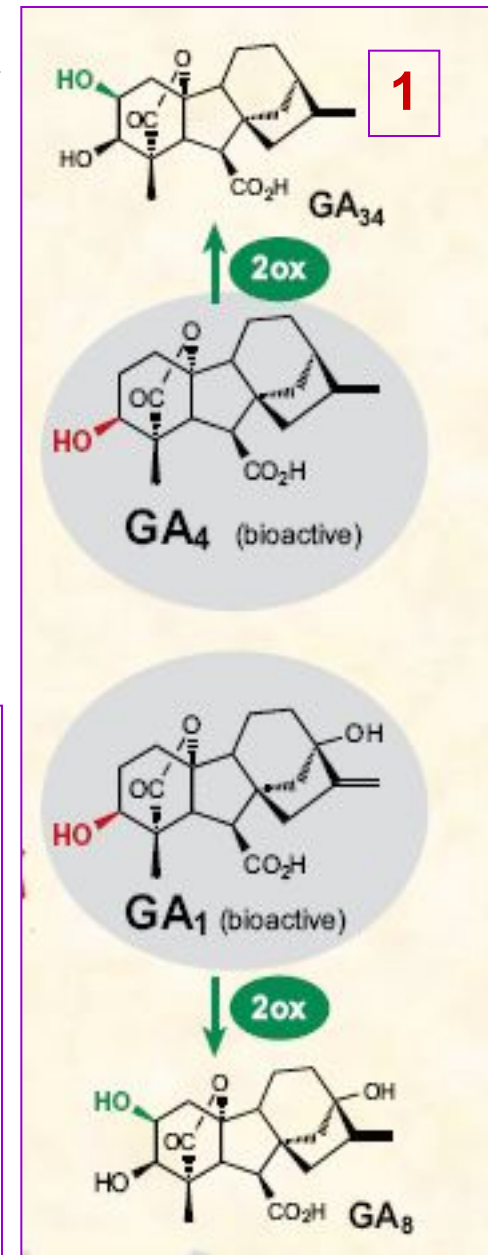
Биосинтез гиббереллинов



- Основные ферменты:
- Семейство **TPS** (терпен-синтазы) – до ЭНТ-каурена:
 - **CPS** (копалил-дифосфат-синтаза)
 - **KS** (ЭНТ-каурен-синтаза)
 - Семейство **P450-монооксигеназ** – до GA₁₂:
 - **KO** (ЭНТ-каурен-оксидаза)
 - **КАО** (оксидаза ЭНТ-кауреновой к-ты)
 - Семейство **2ODD** (2-оксоглутарат-зависимые диоксигеназы) – до GA₁, GA₃, GA₄:
 - **20ox** (GA-20-оксидазы) и **3ox** (GA-3-оксидазы) – синтез активных GA
 - **2ox** (GA-2-оксидазы) – инактивация GA

Инактивация гиббереллинов

1. 2 β -гидроксилирование - GA-2-оксидазы (ферменты группы 2ODD) – основной путь
2. Эпоксидирование – цитохром-P450-монооксигеназа EUI (elongated uppermost internode)
3. Метилирование с использованием S-аденозил- метионина как донора метильных групп – GAMT1, GAMT2

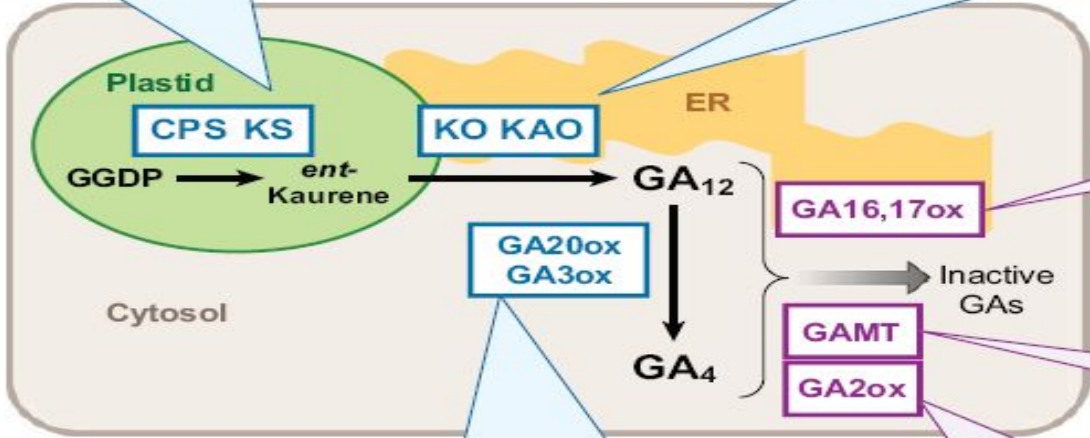


TPS

CPS	<i>AtCPS</i> [GA1]	At4g02780 (103)
KS	<i>AtKS</i> [GA2]	At1g79460 (131)
CPS	<i>OsCPS</i>	Os02g0278700 (88)
KS	<i>OsKS</i>	Os04g0611800 (88)

P450

KO	<i>AtKO/ CYP701A3</i> [GA3]	At5g25900 (32)
KAO	<i>AtKAO1/ CYP88A3</i>	At1g05160 (31)
	<i>AtKAO2/ CYP88A4</i>	At2g32440 (31)
KO	<i>OsKO/ CYP701A</i> [D35]	Os06g0568600 (40)
KAO	<i>OsKAO/ CYP88A5</i>	Os06g0110000 (88)



P450

GA16,17ox	<i>CYP714D1</i> [EU1]	Os05g0482400 (140)
-----------	-----------------------	--------------------

MT

GAMT	<i>GAMT1</i>	At5g56300 (117)
	<i>GAMT2</i>	

2ODD

GA20ox	<i>AtGA20ox1</i> [GA5]	At4g25420 (74)
	<i>AtGA20ox2</i>	At5g51810 (74)
	<i>AtGA20ox3</i>	At5g07200 (74)
	<i>AtGA20ox4</i>	At1g60980 (29)
	<i>AtGA20ox5</i>	At1g44090 (29)
GA3ox	<i>AtGA3ox1</i> [GA4]	At1g15550 (10)
	<i>AtGA3ox2</i>	At1g80340 (130)
	<i>AtGA3ox3</i>	At4g21690 (29)
	<i>AtGA3ox4</i>	At1g80330 (29)
GA20ox	<i>OsGA20ox1</i>	Os03g0856700 (109)
	<i>OsGA20ox2</i> [SD1]	Os01g0883800 (98)
	<i>OsGA20ox3</i>	Os07g0169700 (88)
	<i>OsGA20ox4</i>	Os05g0421900 (88)
GA3ox	<i>OsGA3ox1</i>	Os05g0178100 (41)
	<i>OsGA3ox2</i> [D18]	Os01g0177400 (41)

2ODD

GA2ox (I)	<i>AtGA2ox1</i>	At1g78440 (106)	
	<i>AtGA2ox2</i>	At1g30040 (106)	
	<i>AtGA2ox3</i>	At2g34555 (106)	
	(II)	<i>AtGA2ox4</i>	At1g47990 (29)
		<i>AtGA2ox6</i>	At1g02400 (29,119)
	(III)	<i>AtGA2ox7</i>	At1g50960 (93)
		<i>AtGA2ox8</i>	At4g21200 (93)
	GA2ox (I)	<i>OsGA2ox3</i>	Os01g0757200 (90)
<i>OsGA2ox4</i>		Os05g0514600 (88)	
(II)		<i>OsGA2ox1</i>	Os05g0158600 (87)
		<i>OsGA2ox2</i>	Os01g0332300 (88)
(III)		<i>OsGA2ox5</i>	Os07g0103500 (58)
		<i>OsGA2ox6</i>	Os04g0522500 (58)

Экспрессия генов биосинтеза гиббереллинов



WT *ga1-3*



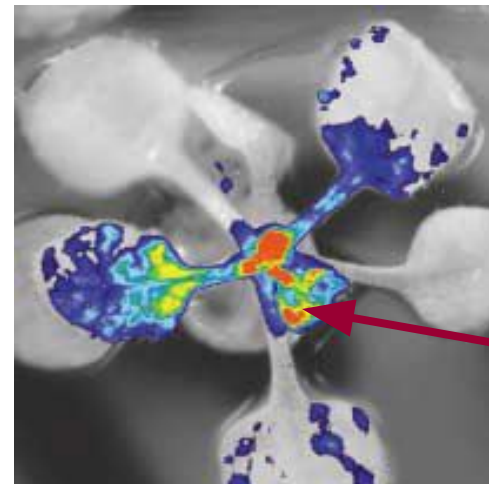
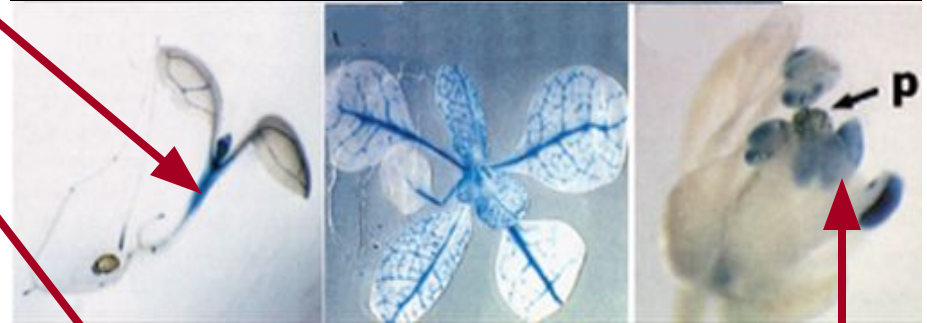
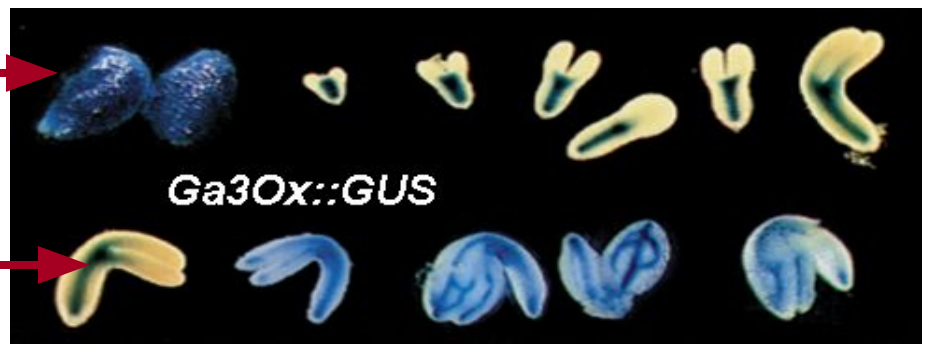
WT *grd2*

Фенотипы мутантов по генам CPS, KS, KO – гиббереллин-чувствительные карлики

эндосперм

проводящая система

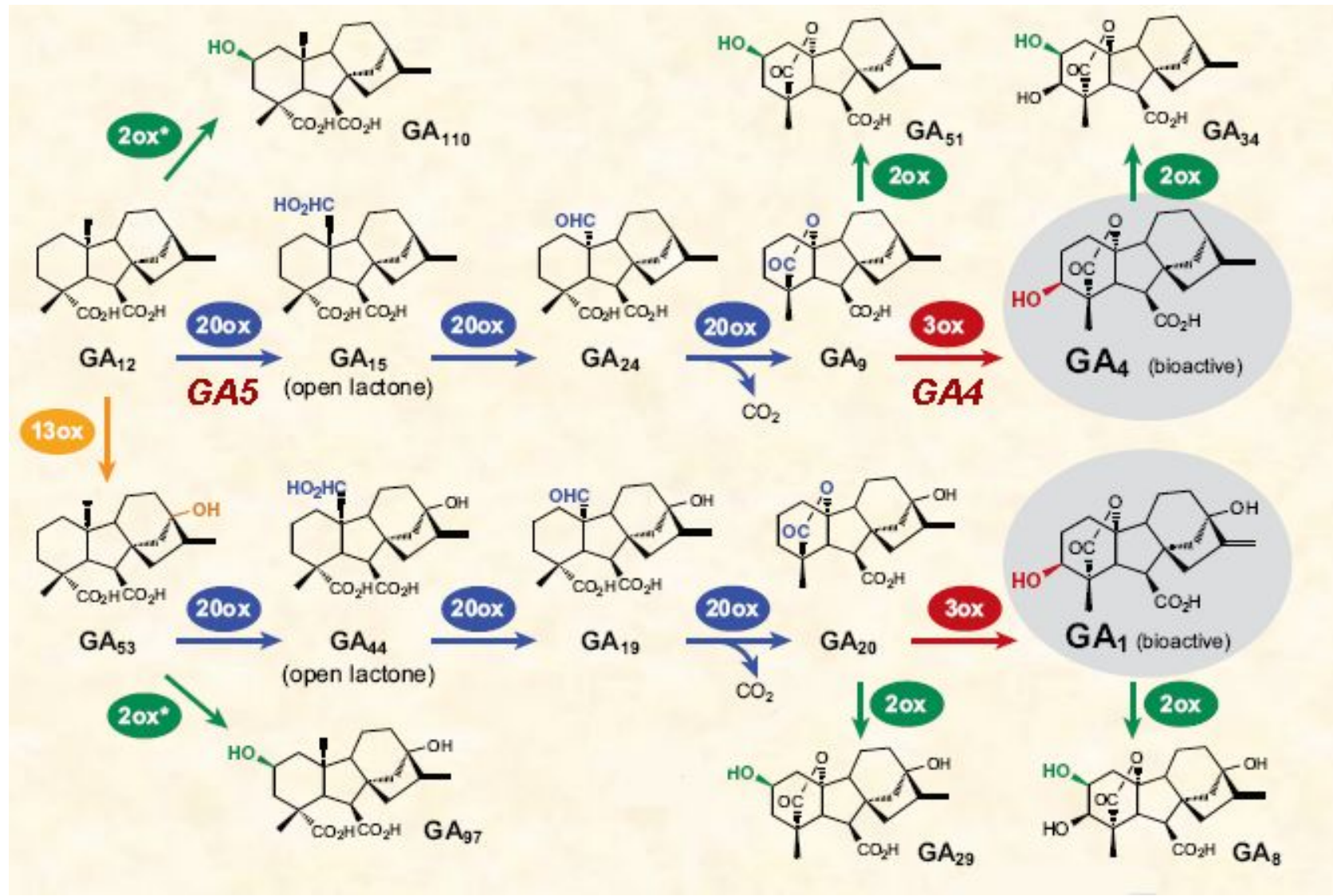
андроцей



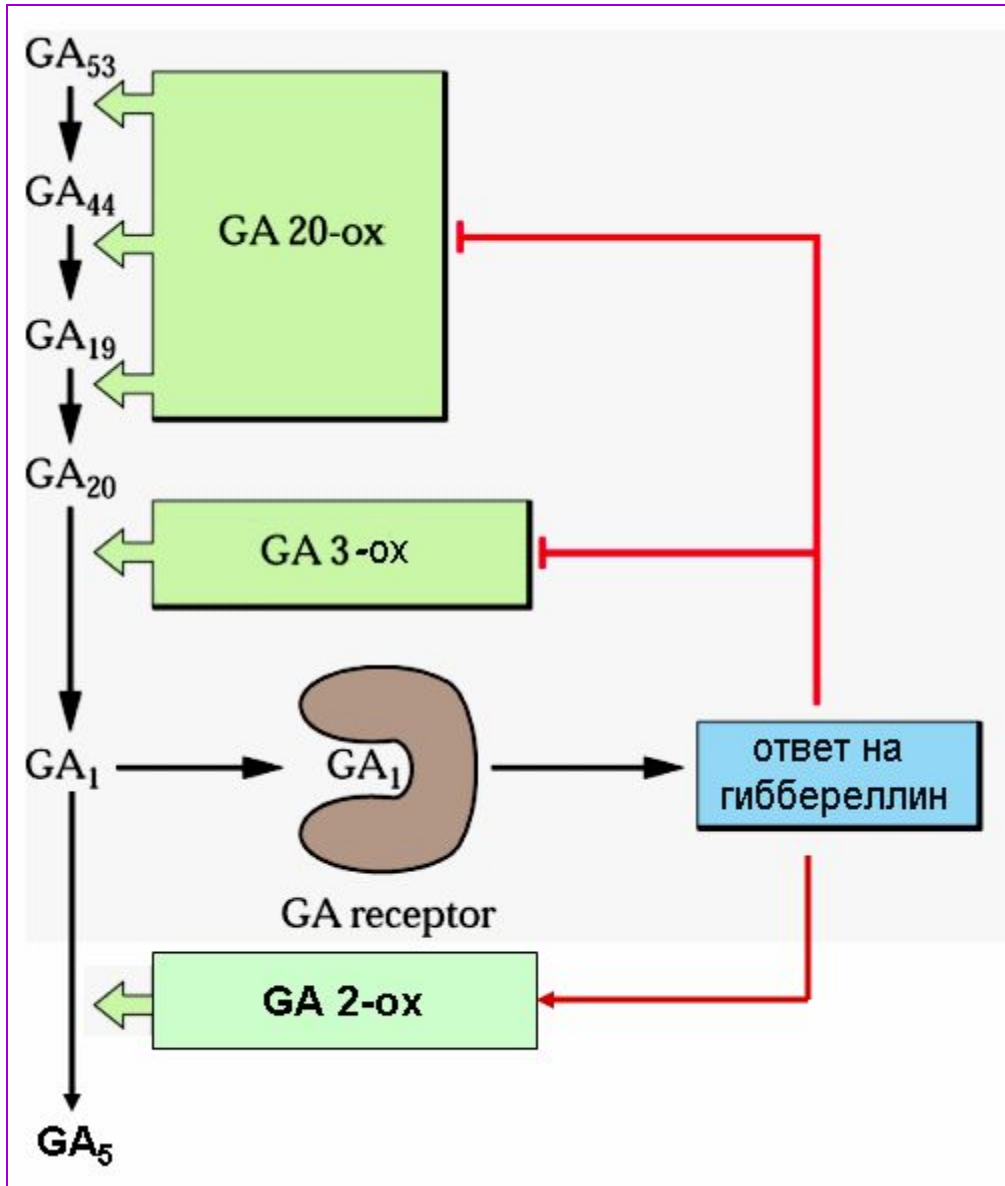
pGa20Ox-Luc

Основное место биосинтеза гиббереллинов – молодые листья и листовые примордии

Основной путь регуляции концентрации гиббереллинов - контроль экспрессии генов 2ODD (*Ga3-Ox*, *Ga20-Ox* - активаторы, *Ga2-Ox* - инактиваторы)



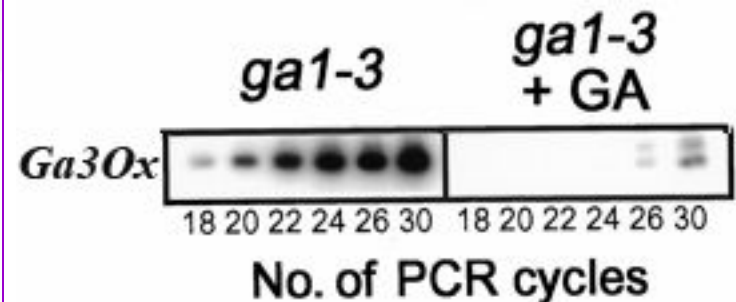
Регуляция биосинтеза гиббереллинов конечным продуктом (feedback)



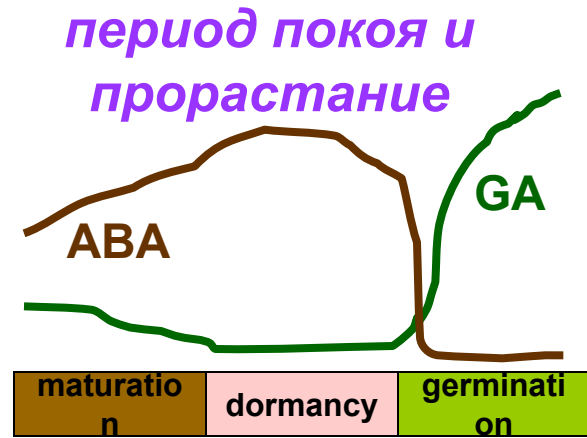
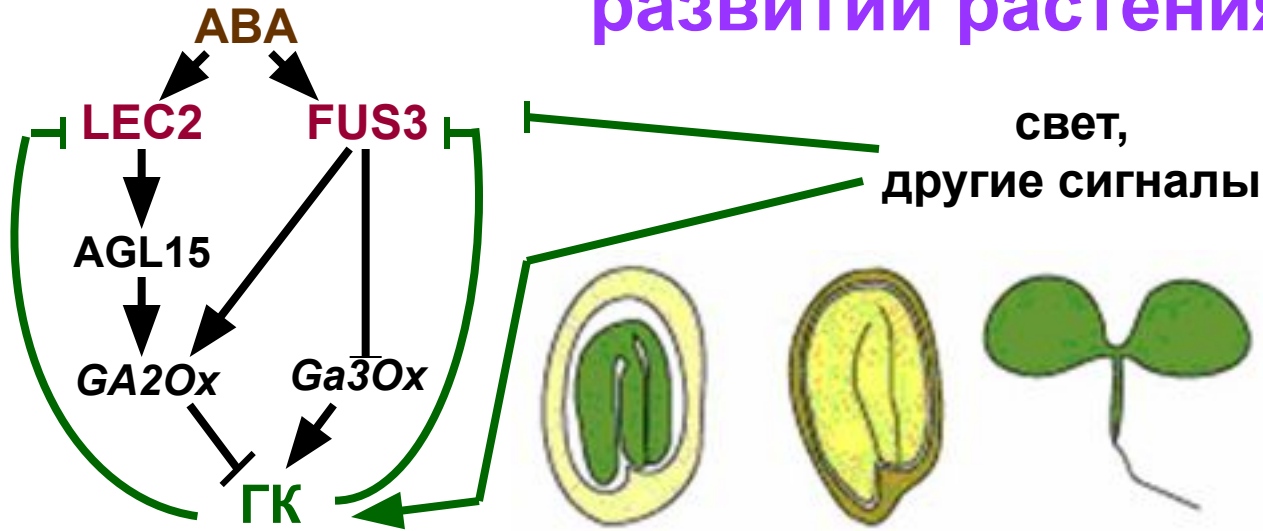
Активные гиббереллины вызывают:

- репрессию транскрипции генов GA-20-ox и GA-3-ox
- активацию транскрипции генов GA2-ox

Результат – снижение концентрации гиббереллинов в тканях

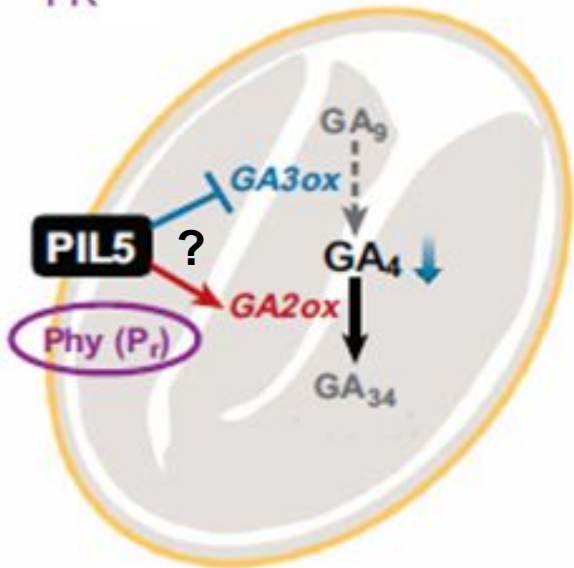


Регуляция биосинтеза гиббереллинов в развитии растения

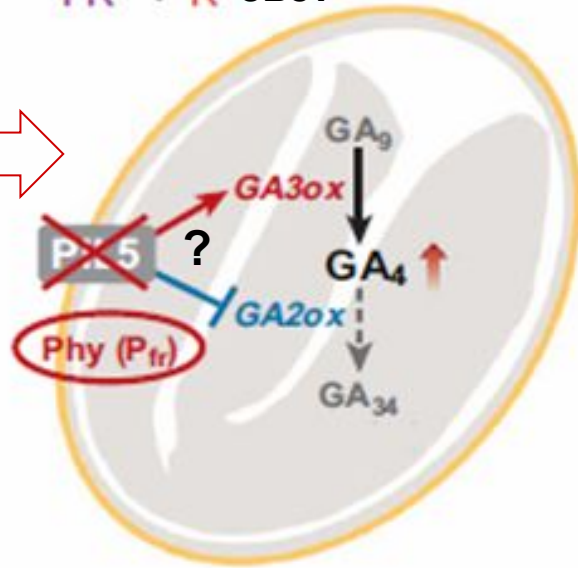
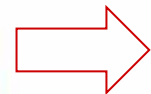


FR темнота

FR → R свет



Нет прорастания



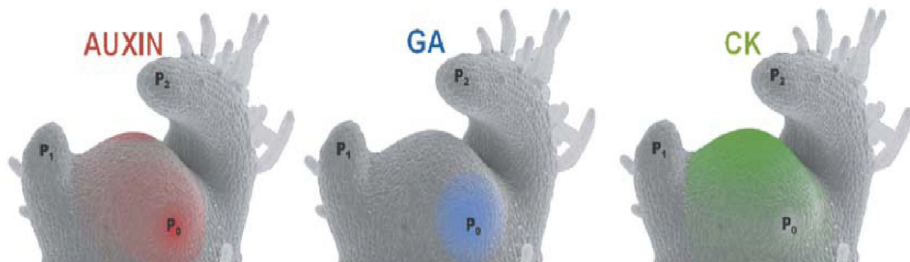
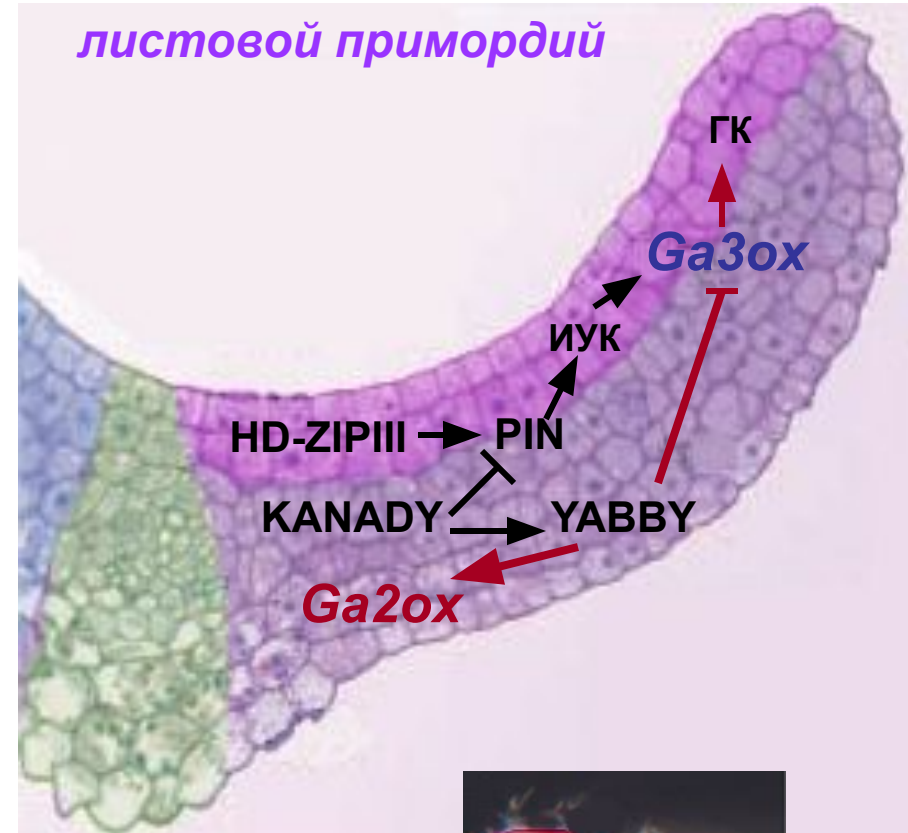
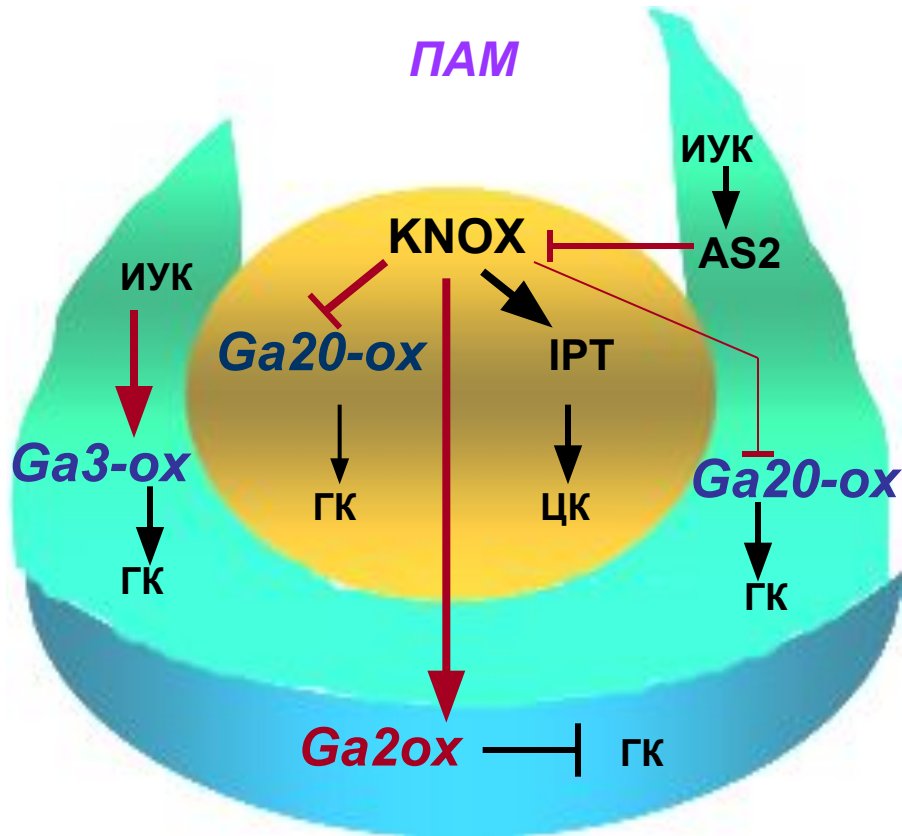
Прорастание

Световой контроль прорастания у растений с мелкими семенами:
 PIL5 регулирует экспрессию **Ga3-Ox** и **Ga2-Ox**, взаимодействуя с неизвестными ТФ

Регуляция биосинтеза гиббереллинов в развитии растения

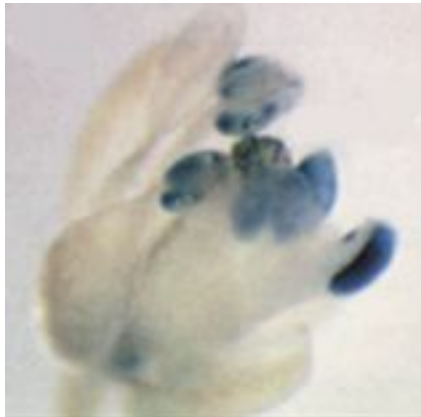
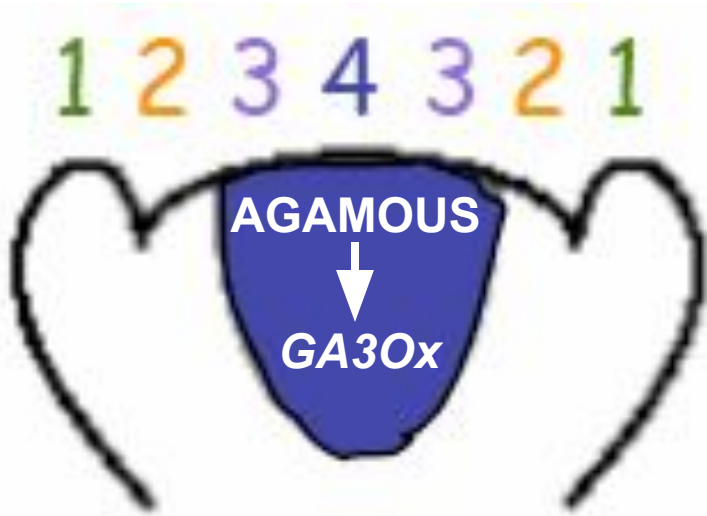
1). KNOX — ГК, 2). ИУК □ ARF □ ГК

1). ИУК □ ARF □ ГК, 2). YABBY — ГК

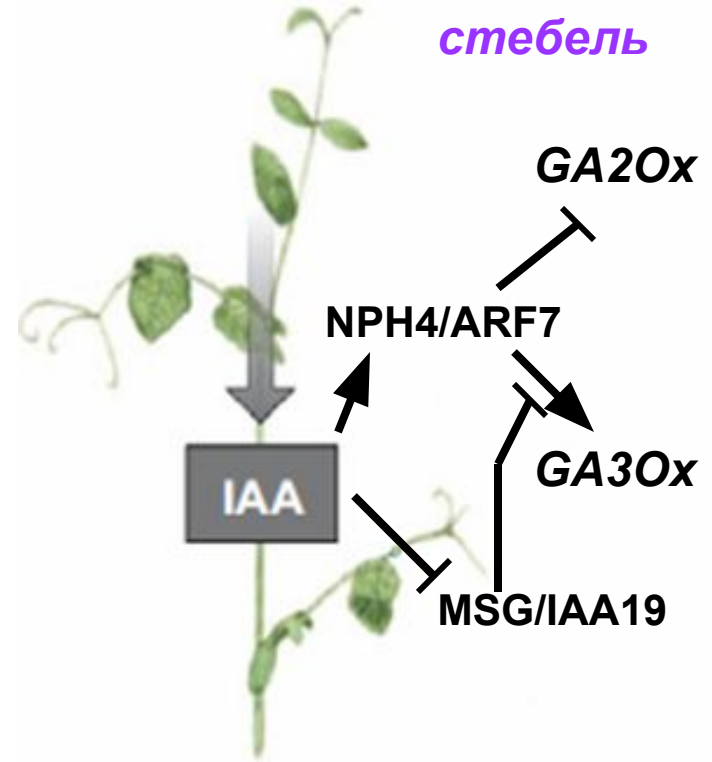


Регуляция биосинтеза гиббереллинов в развитии растения

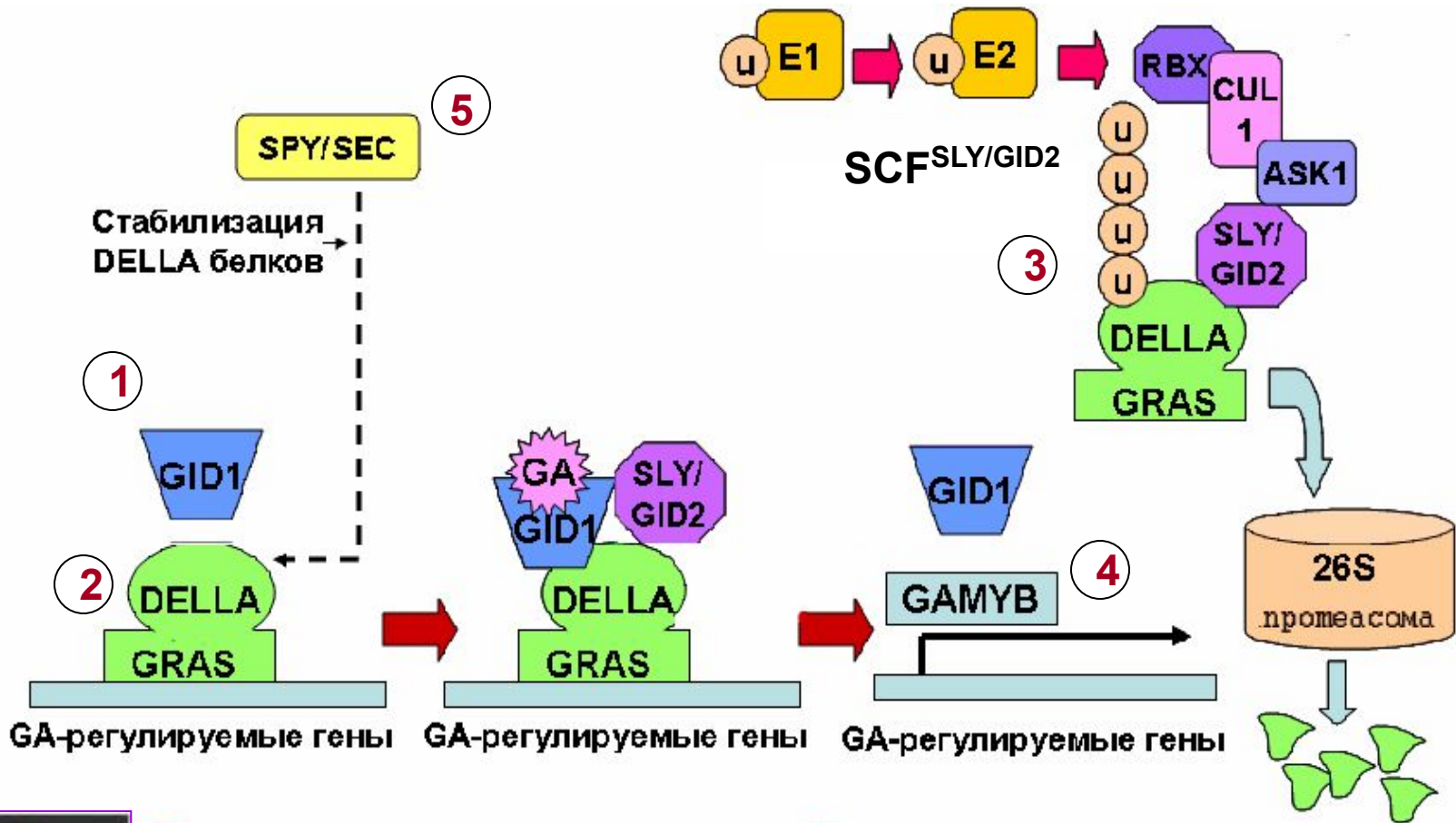
Органы цветка



стебель



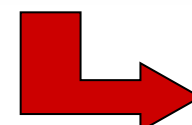
Рецепция и передача сигнала при ответе на гиббереллины



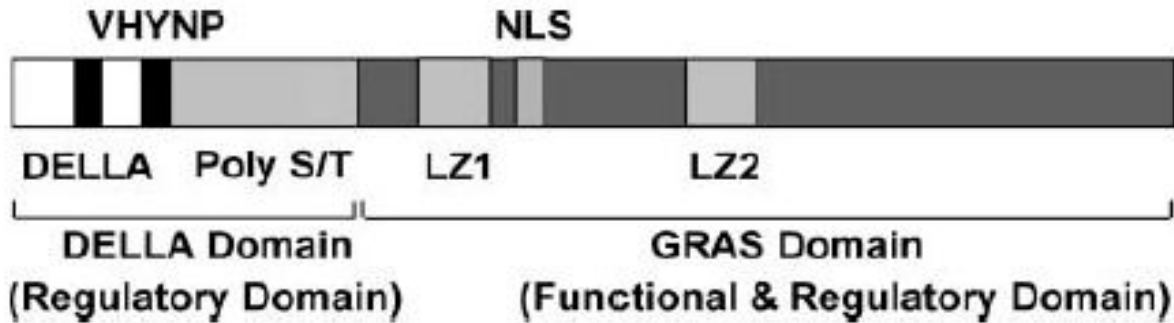
Репрессия транскрипции



Активация транскрипции



Белки DELLA - репрессоры ответа на гиббереллины

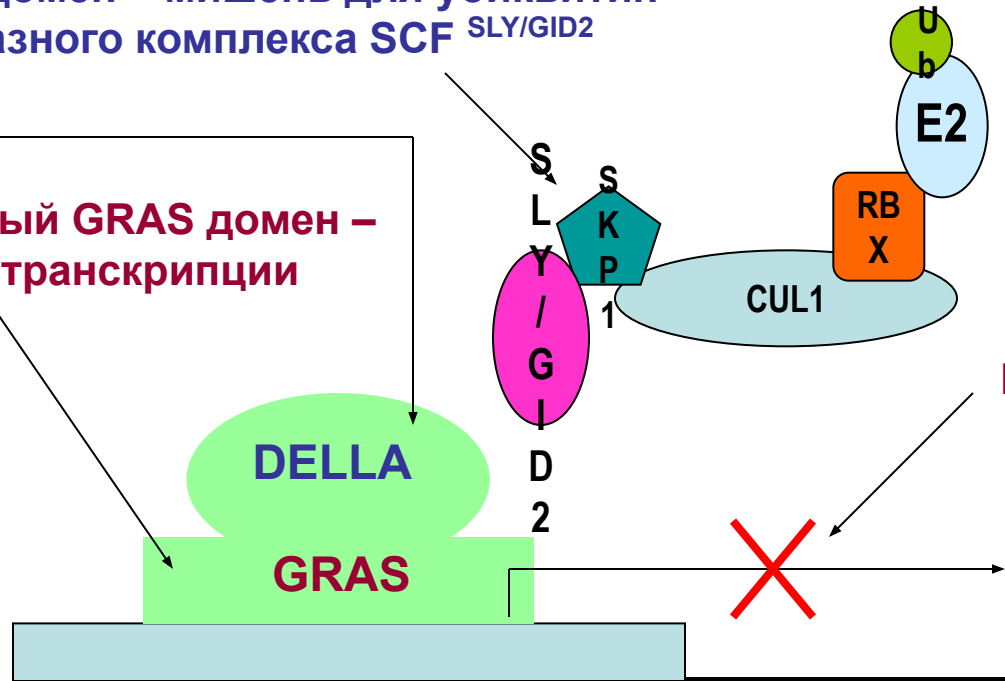


Относятся к семейству ТФ GRAS (от GAI, RGA, SCARECROW)

DELLA домен – мишень для убиквитин-лигазного комплекса SCF^{SLY/GID2}

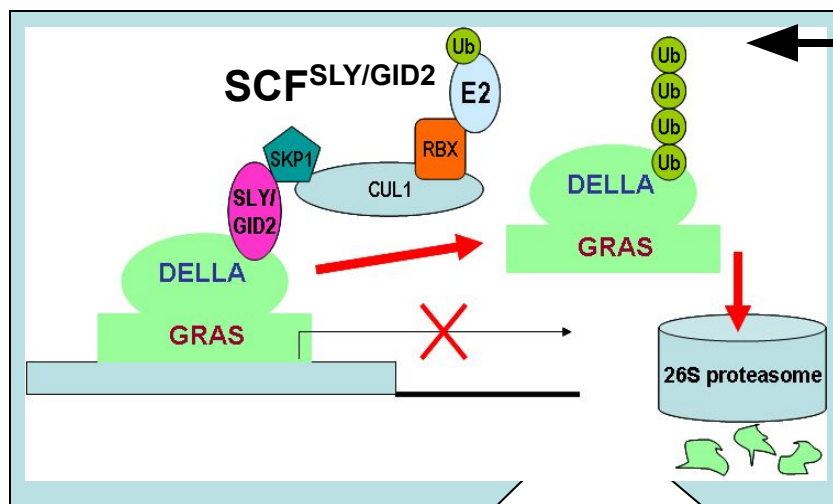
Убиквитинирование DELLA комплексом SCF^{SLY/GID2} □ дерепрессия транскрипции

Консервативный GRAS домен – регулятор транскрипции

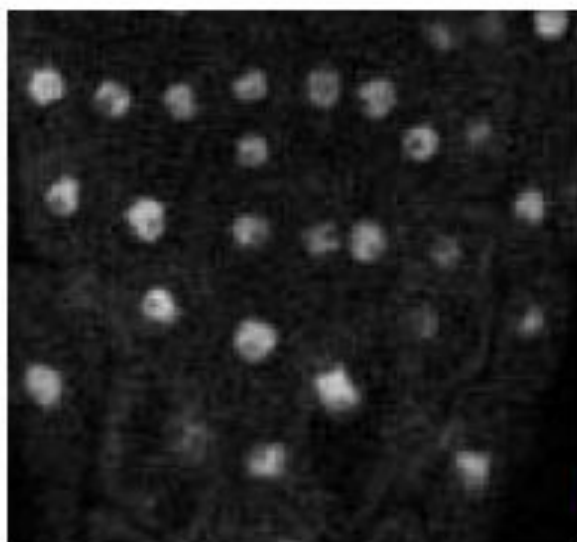


Подавляют экспрессию гиббереллин-регулируемых генов

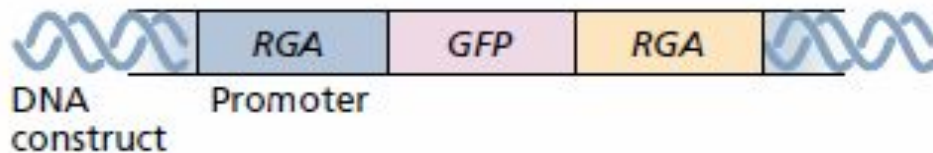
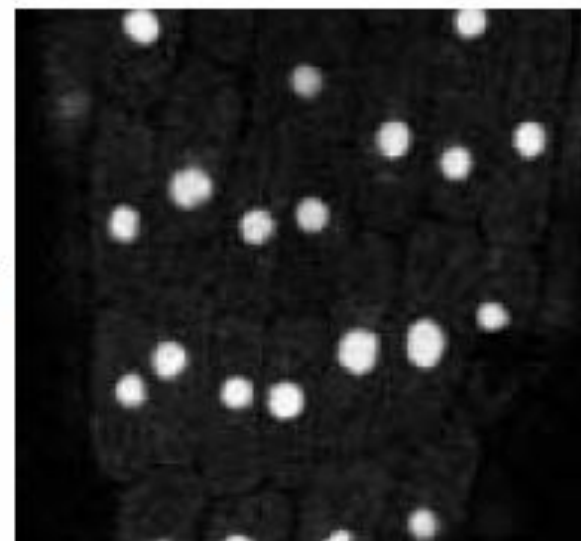
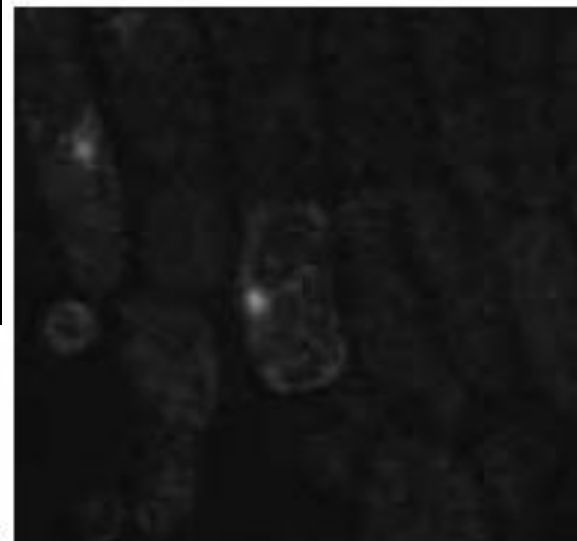
Гиббереллины вызывают деградацию DELLA белков



Механизм –
убиквитинирование,
опосредованное SCF^{SLY/GID2}

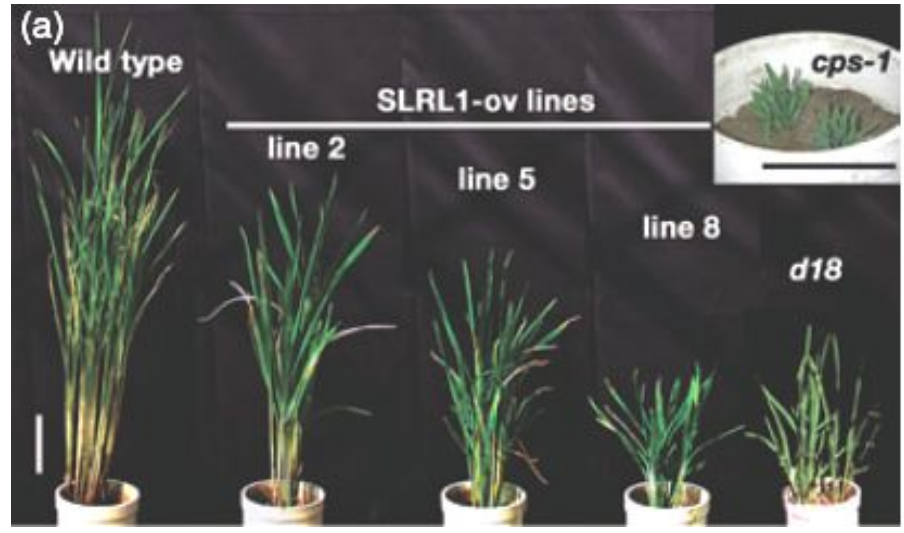
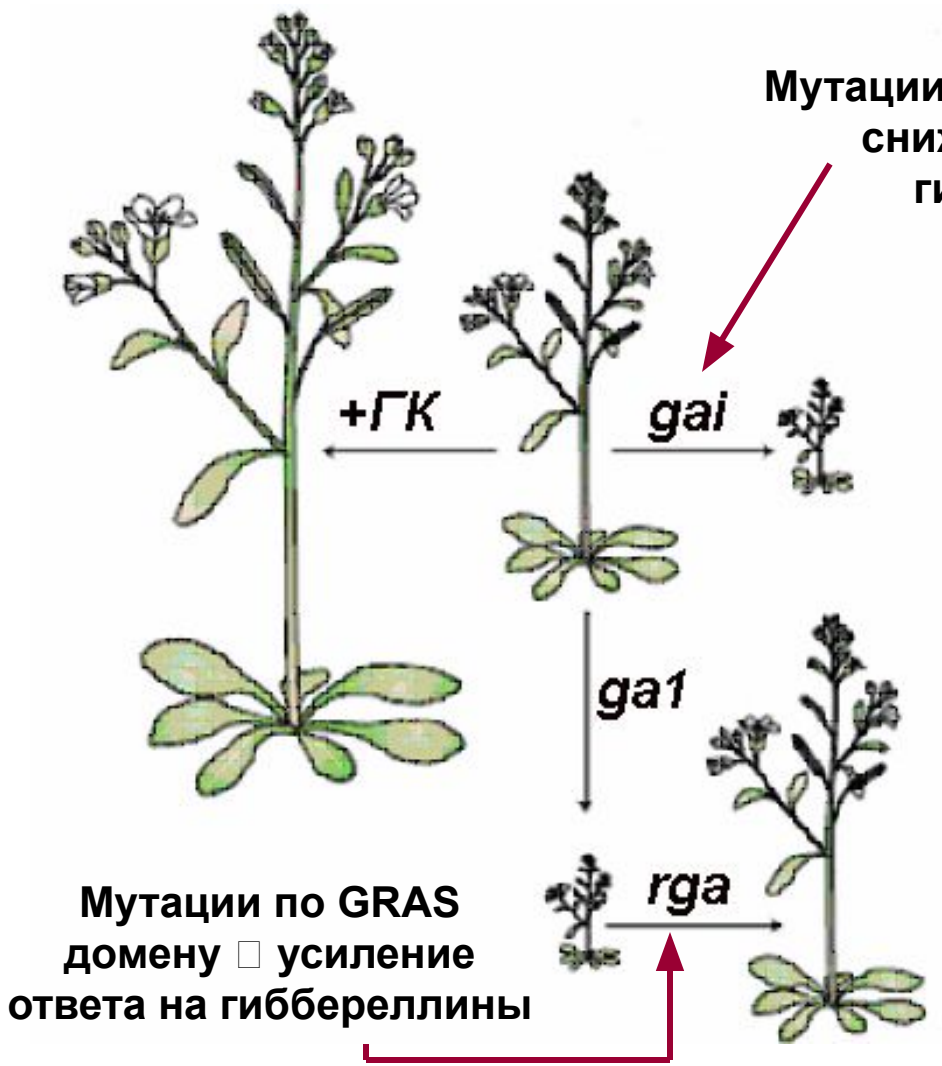


+GA
2 h
48 h
+ Paclobutrazole



Гены DELLA:

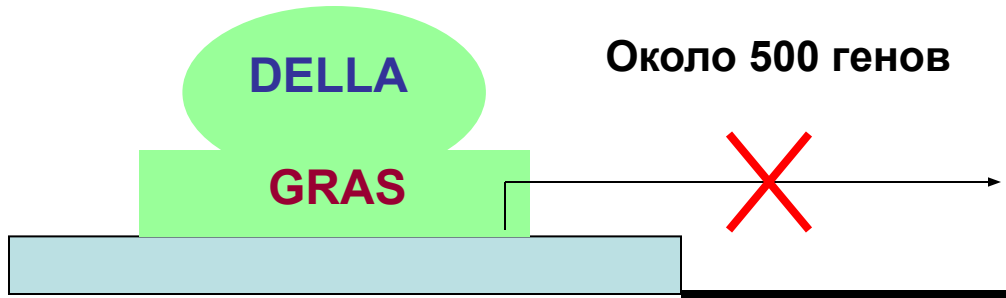
Рис: *SLR (SLENDER RICE)*, *SLRL1* и *SLRL2 (SLR-Like 1 и 2)*,
Арабидопсис: *GAI (GA-INSENSITIVE)*, *RGA (REPRESSOR OF ga1)*, *RGL1*, *RGL2*,
RGL3 (RGA-Like 1, 2 и 3).



Сверхэкспрессия DELLA □
снижение ответа на гиббереллины

Гены-мишени ТФ DELLA

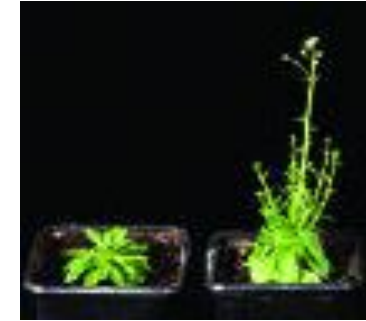
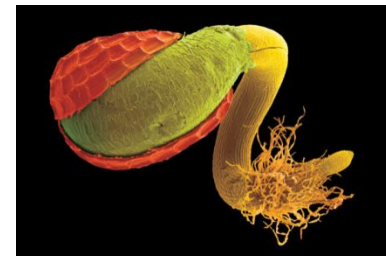
1). Негативно регулируются DELLA белками



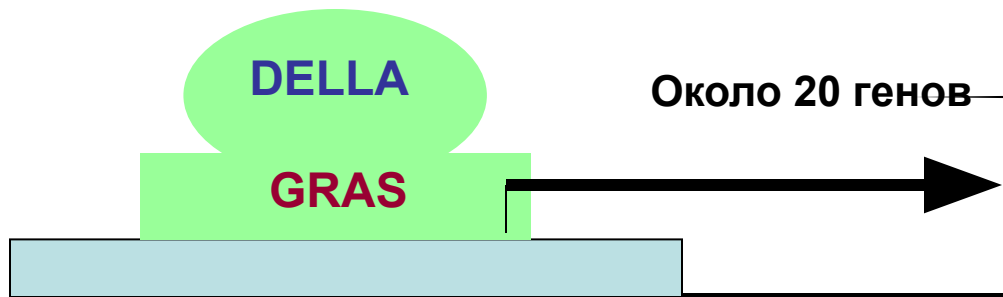
Гены α амилаз в эндосперме прорастание

Гены *LEAFY* и *SOC* в апексе переход к цветению

Гены *CDKA*, *EXP*, *XET* в междоузлиях и корне рост в длину



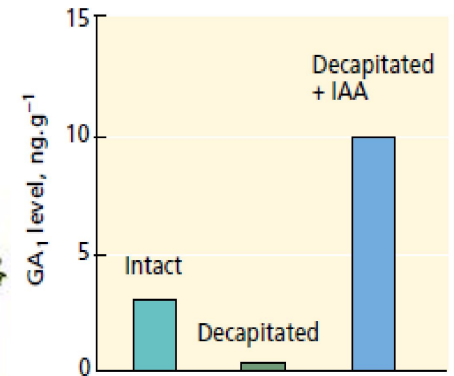
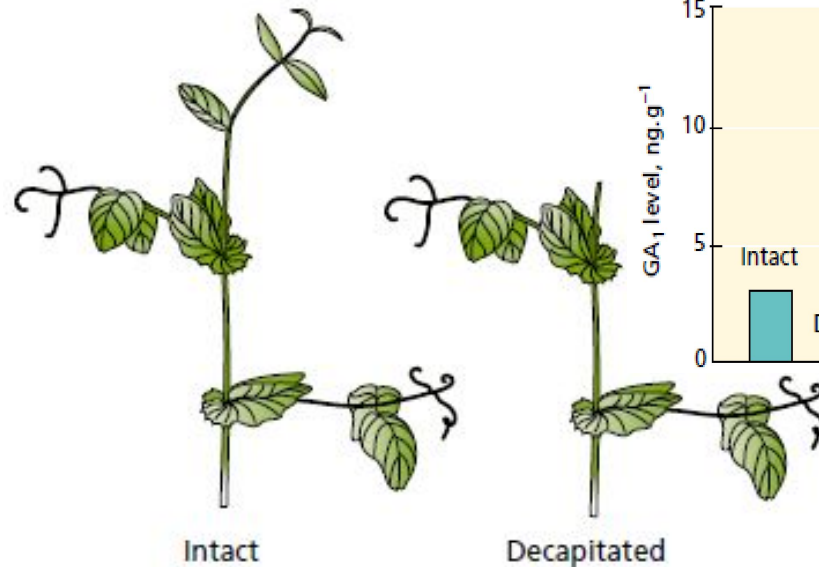
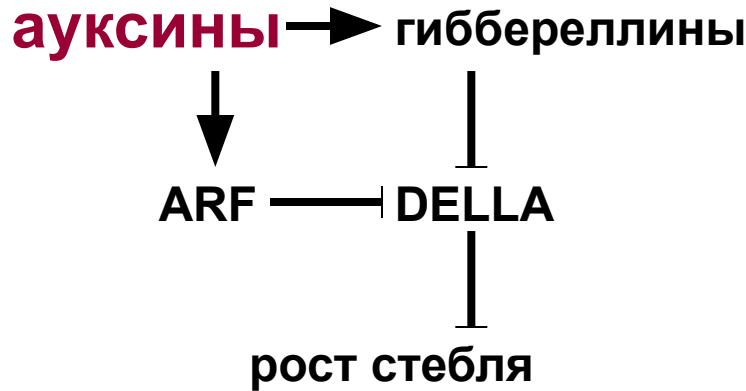
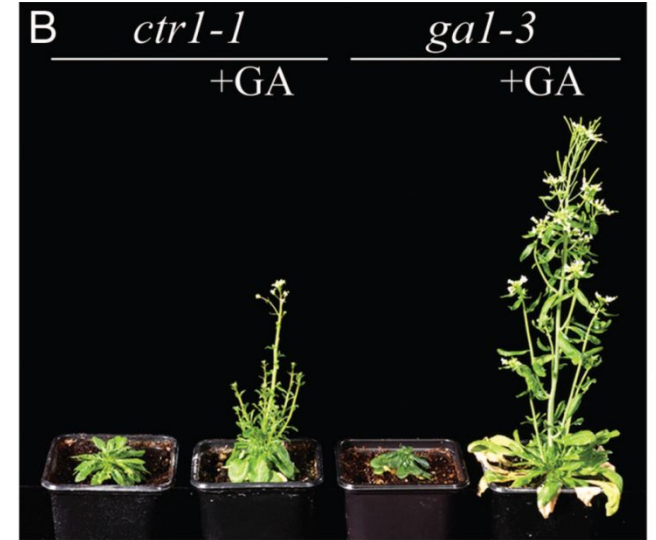
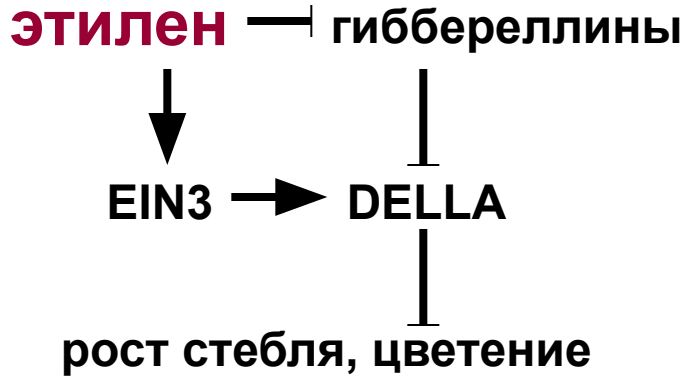
2). Позитивно регулируются DELLA белками

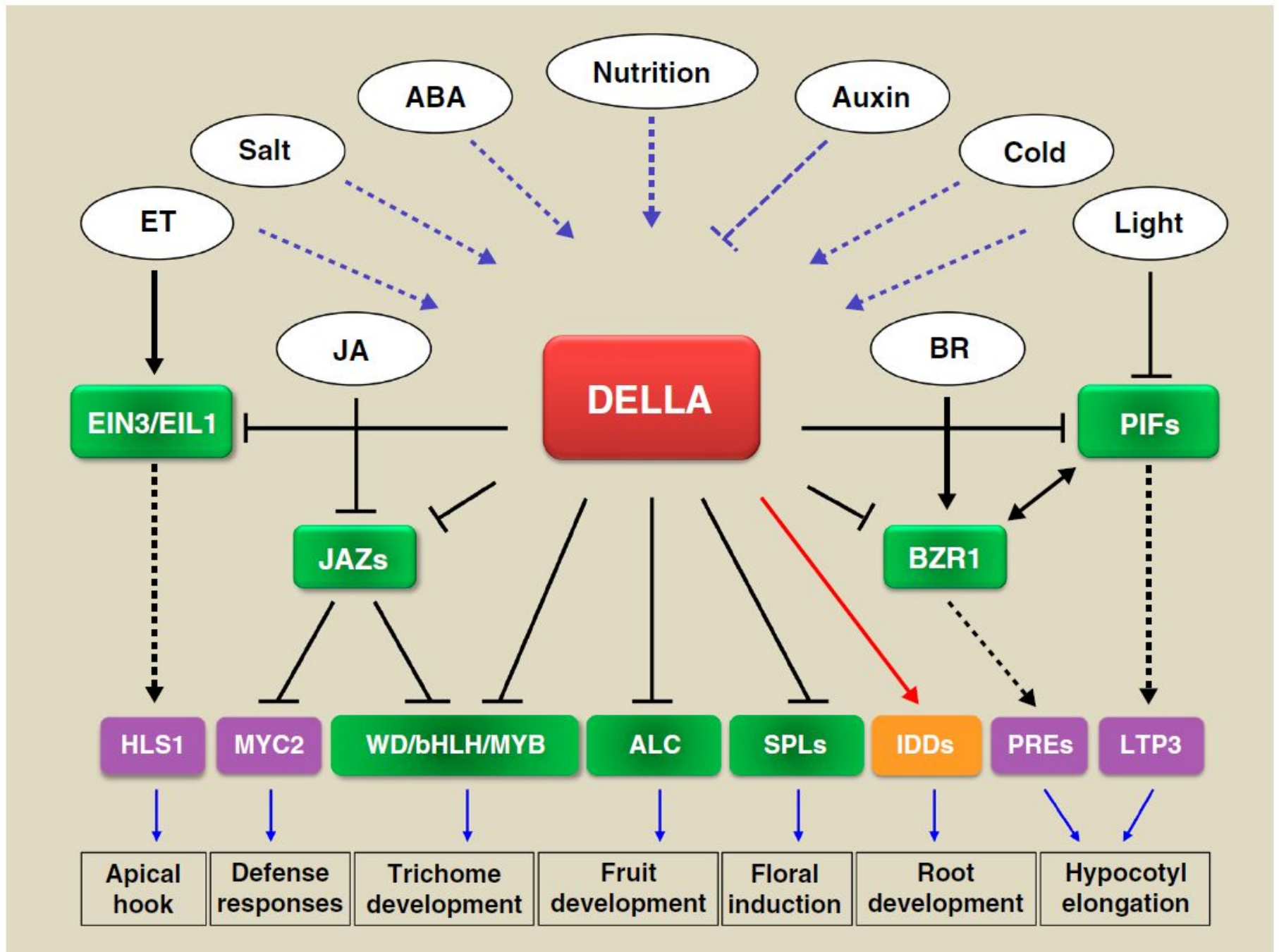


• Гены биосинтеза гиббереллинов: *Ga20Ox*, *Ga3Ox*

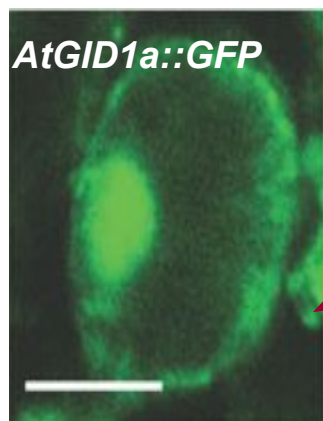
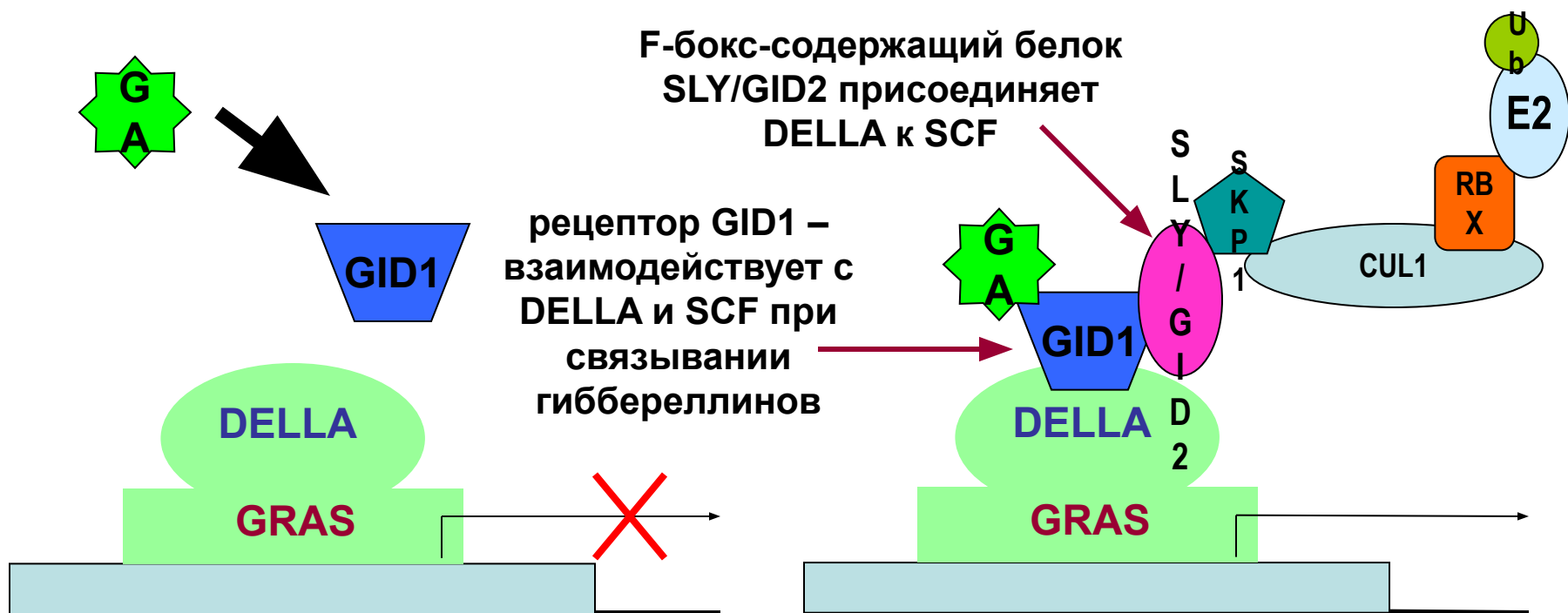
• Гены сигналинга гиббереллинов: *GID1*, компоненты комплекса *SCF^{SLY/GID2}*

DELLA белки и взаимодействие гиббереллинов с другими гормонами



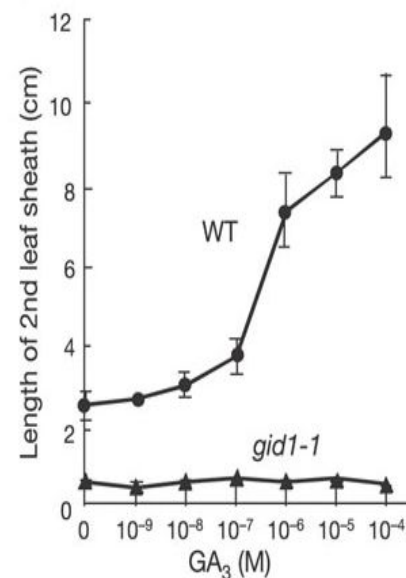


Белок GID1 – рецептор гиббереллинов

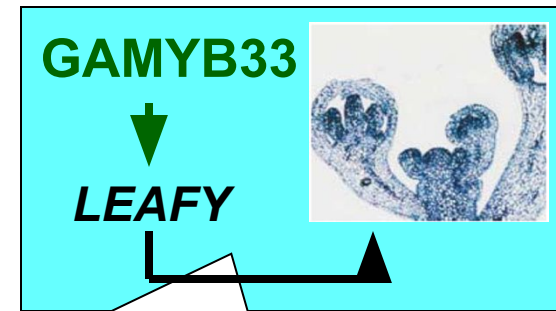
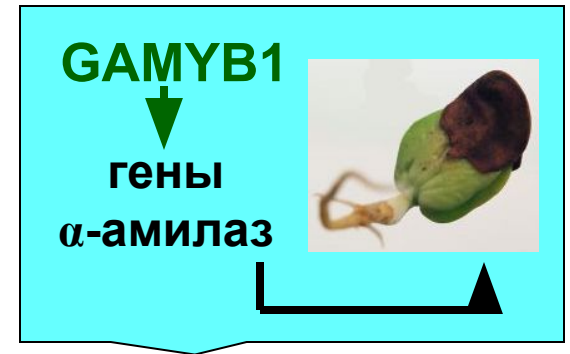
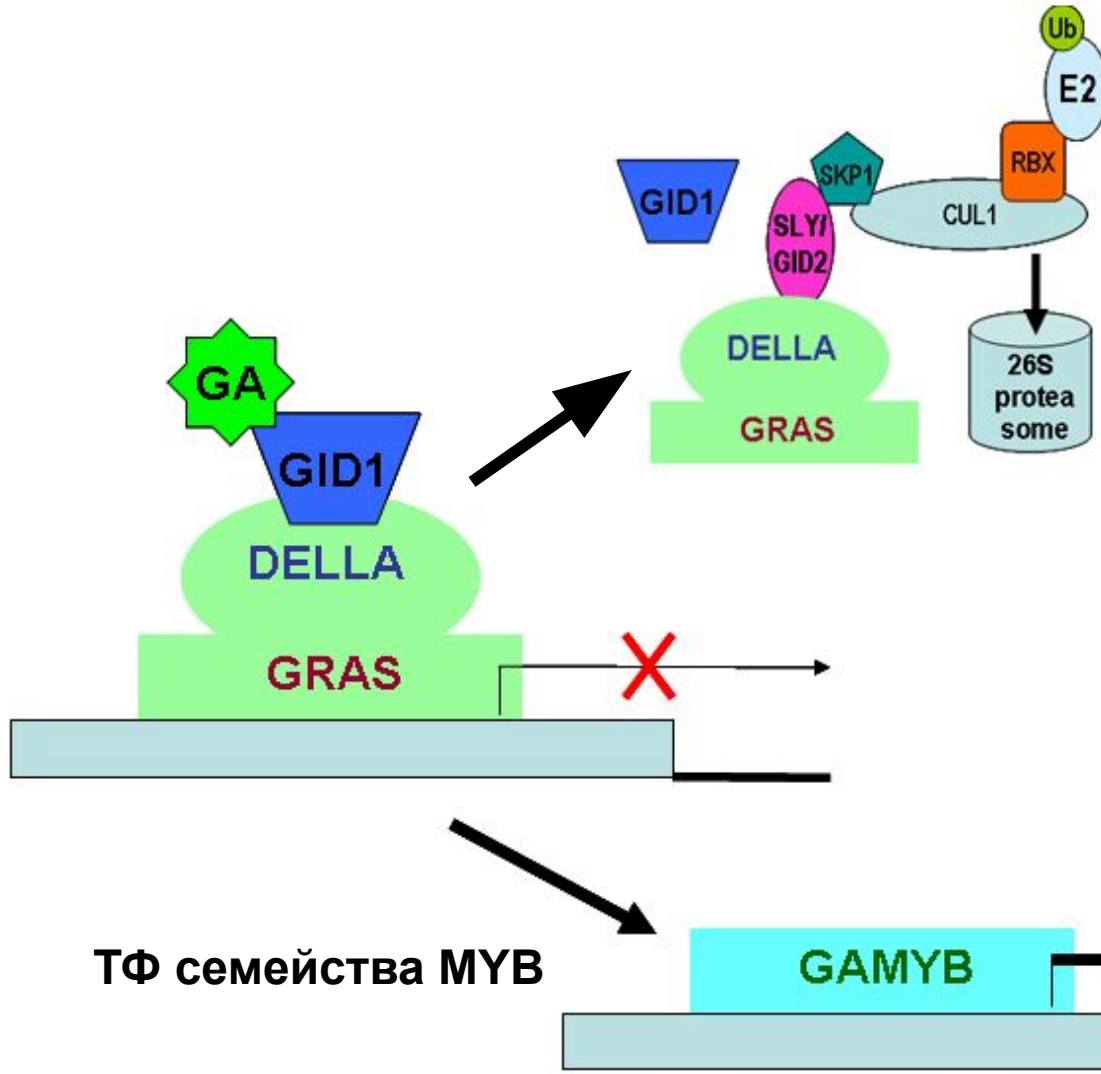


Ядерный белок из семейства гормон-чувствительных липаз

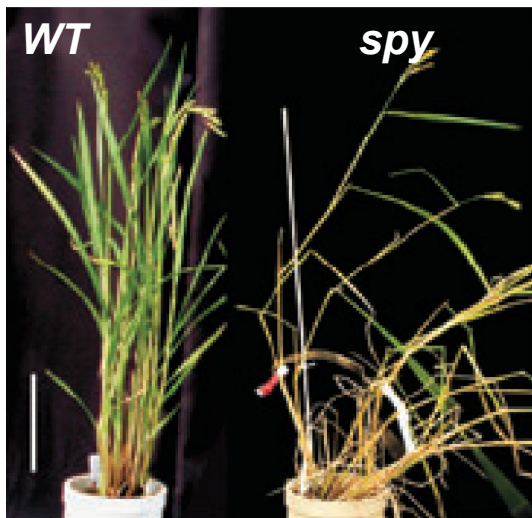
Фенотип мутантов *gid* – гиббереллин-нечувствительные карлики (GID=Gibberellin Insensitive Dwarf)



ТФ GAMYB – регуляторы экспрессии гиббереллин-зависимых генов

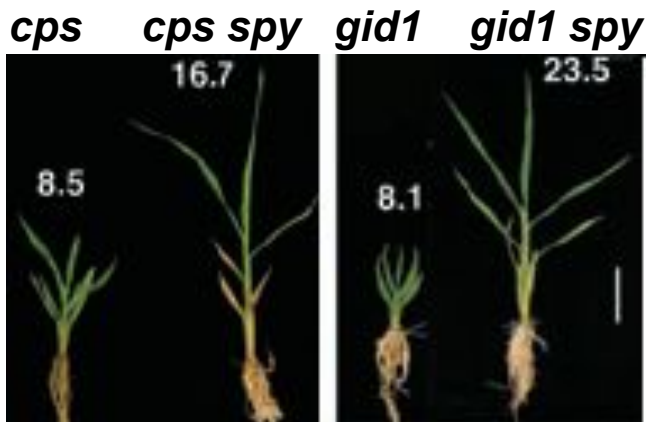


Белки SPY и SEC – стабилизаторы DELLA белков



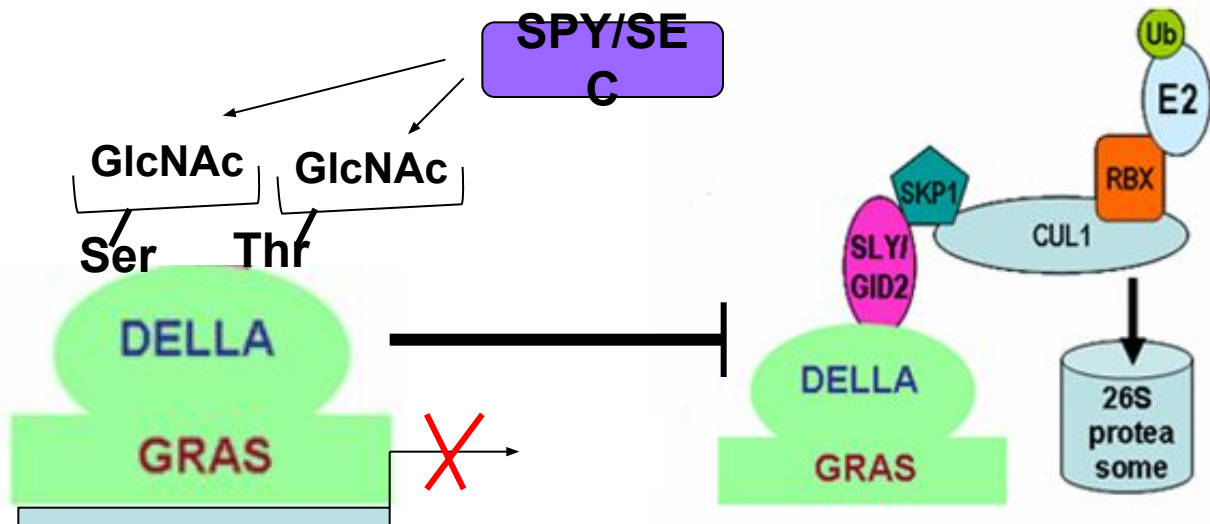
«гиббереллиновый» фенотип

Потеря функции генов *SPY* (*SPINDLY*):

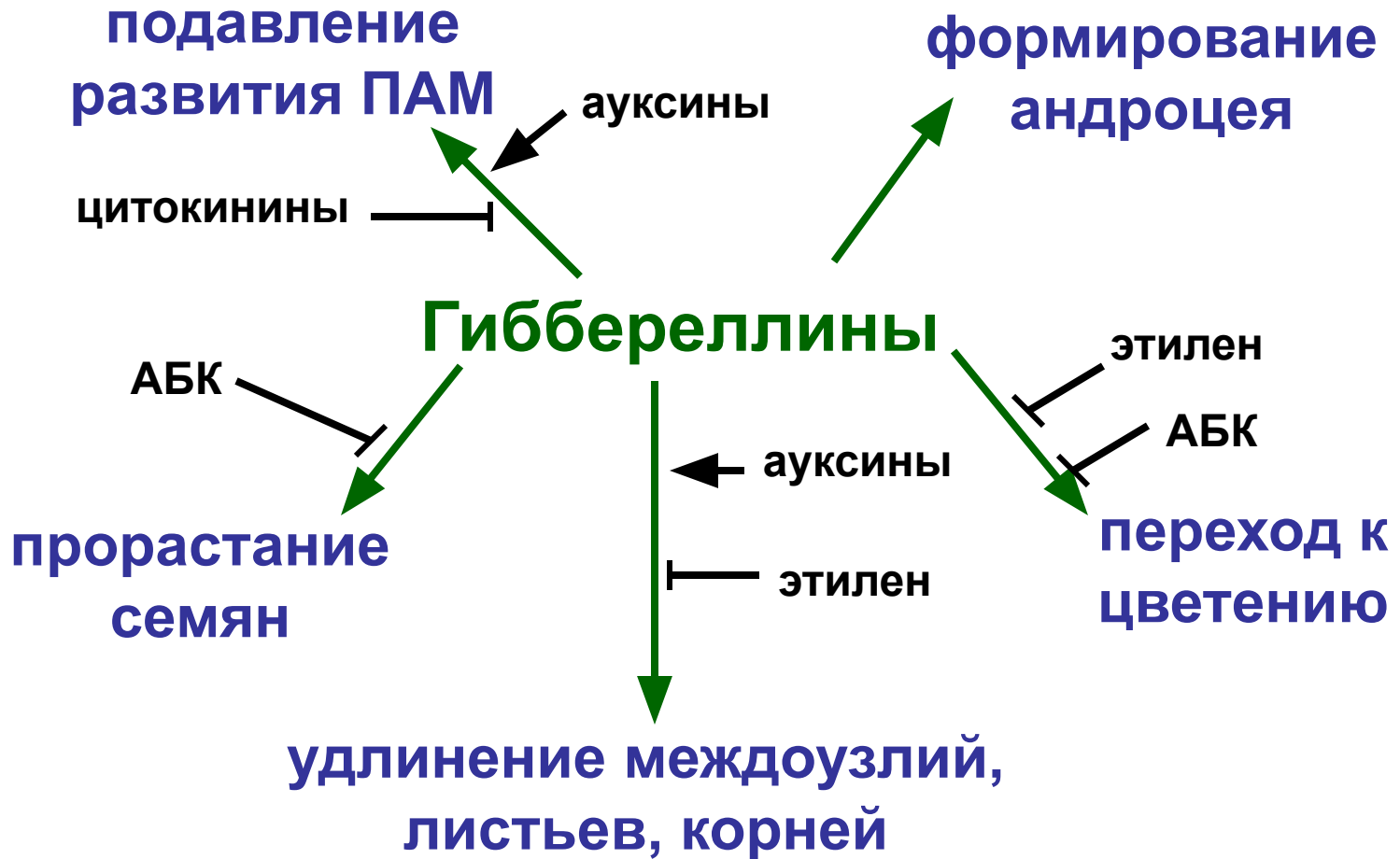


восстановление фенотипа мутантов по биосинтезу и сигналингу

SPY и SEC - белки OGT (O-linked N-acetylglucosaminase (O-GlcNAc) transferases)



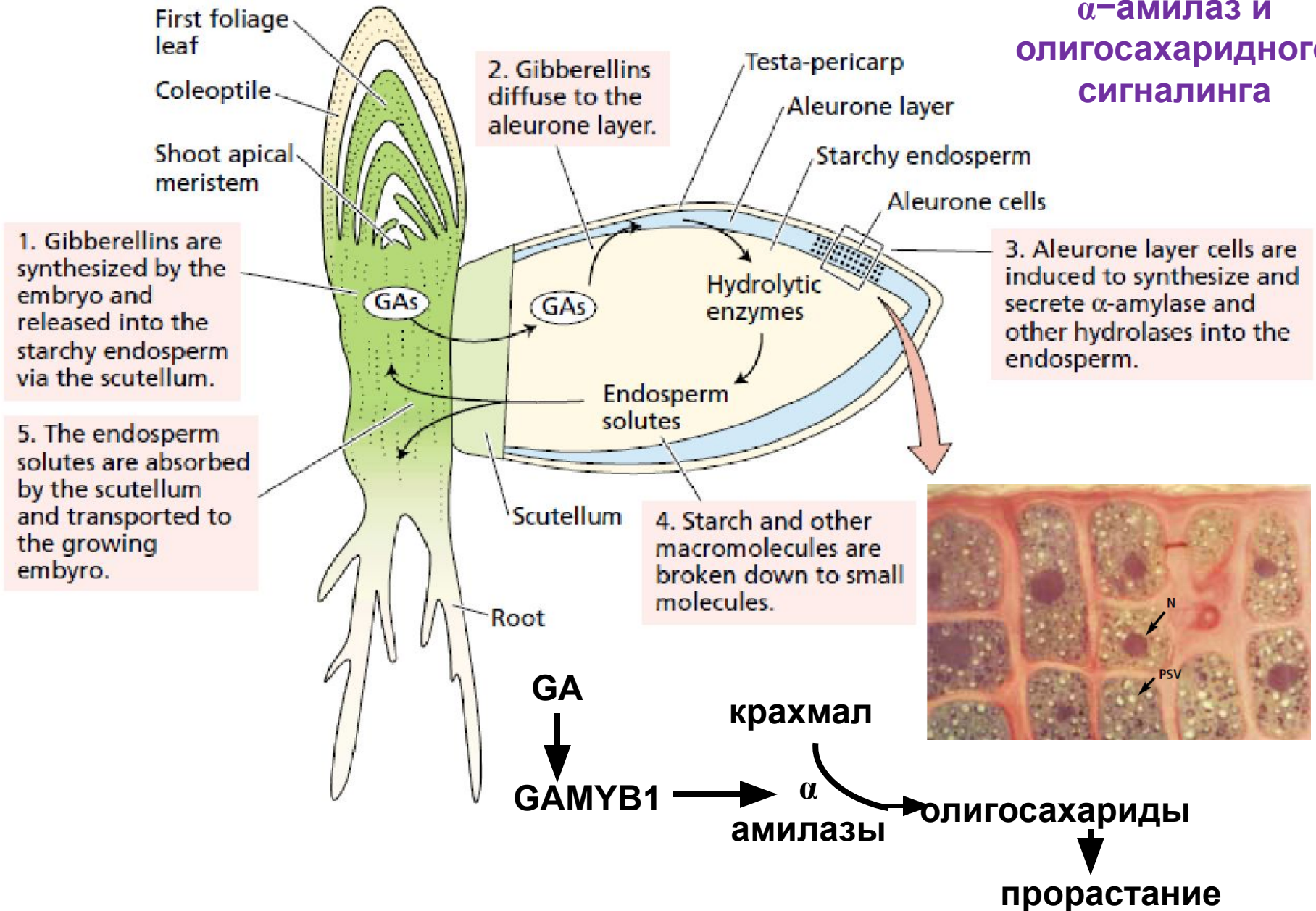
Функции гиббереллинов в развитии растений



Функции гиббереллинов в развитии растений:

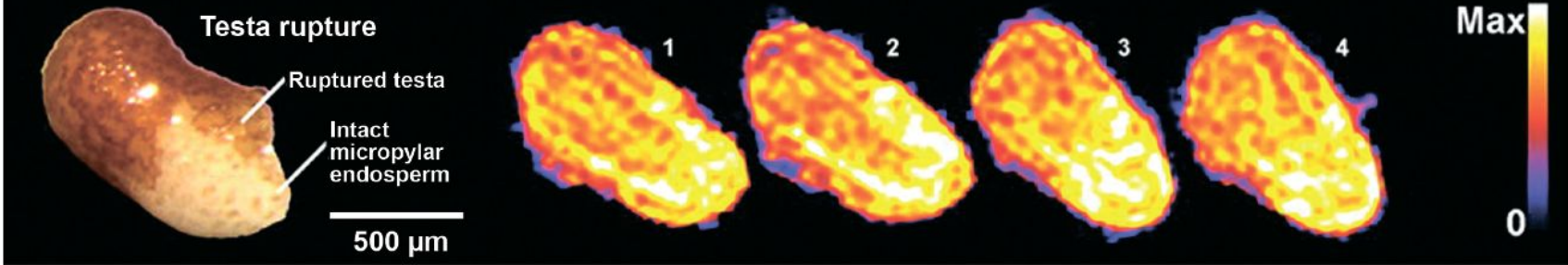
прорастание семян

1. Индукция α -амилаз и олигосахаридного сигналинга

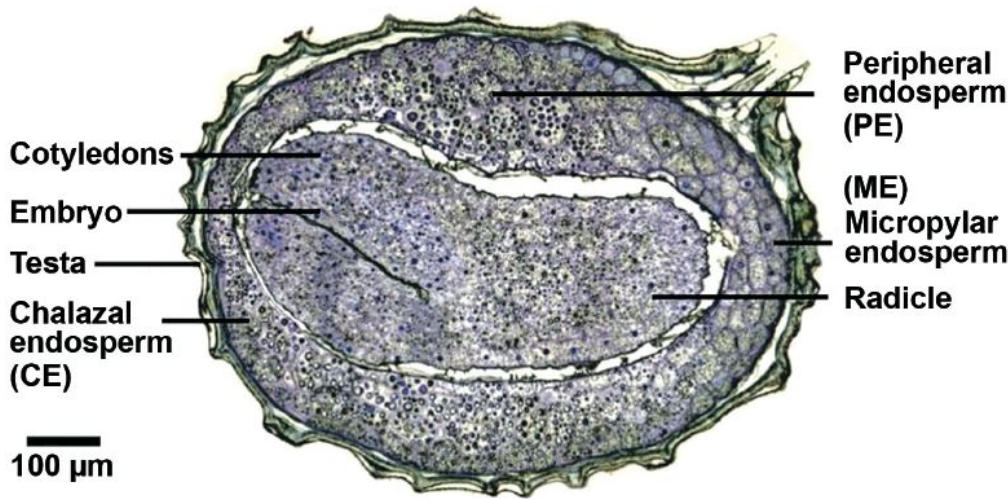


Функции гиббереллинов в развитии растений: проращивание семян. 2. Выход проростка из семенной кожуры

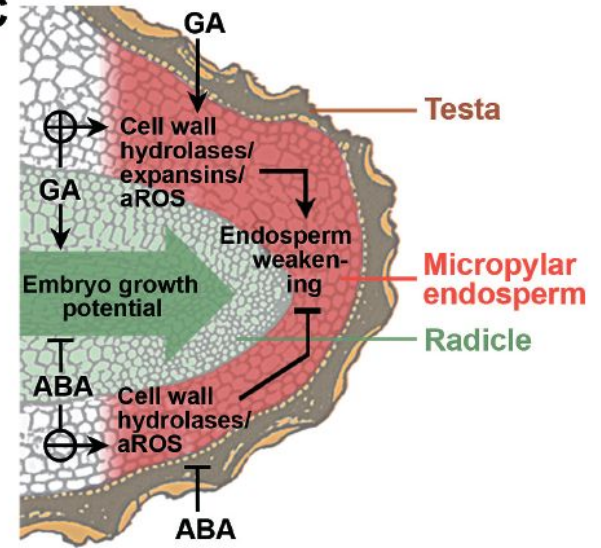
A Water uptake and distribution during tobacco germination



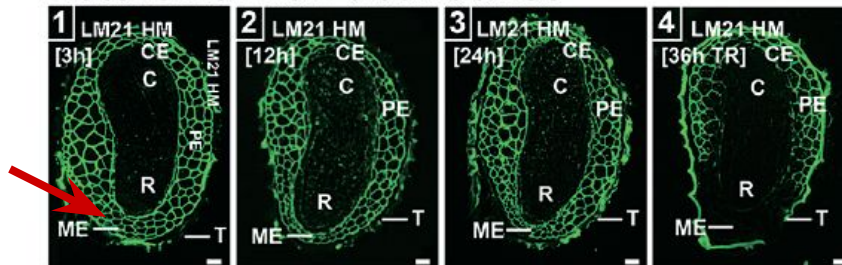
B



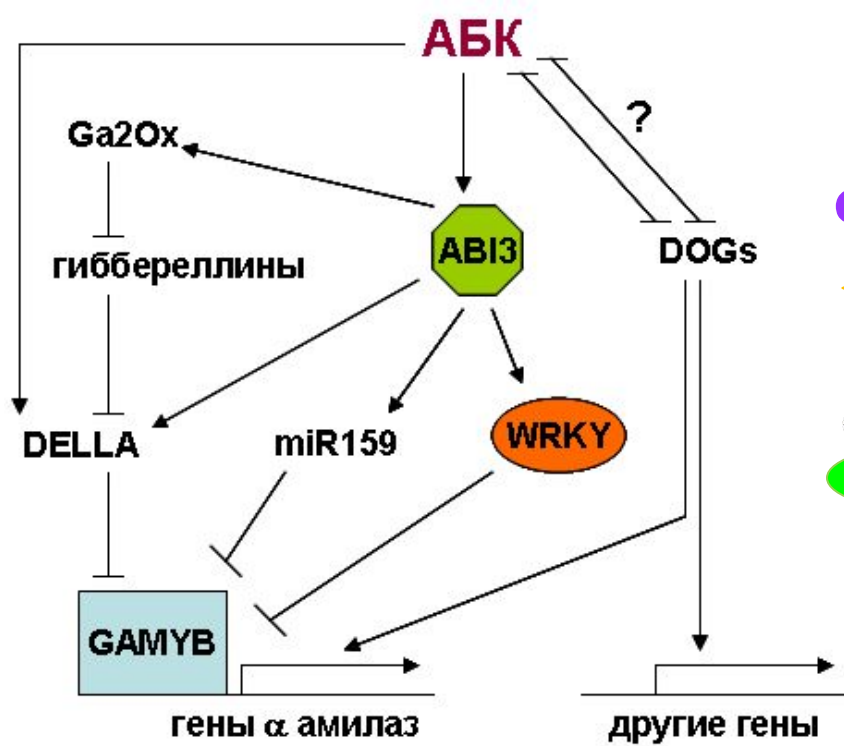
C



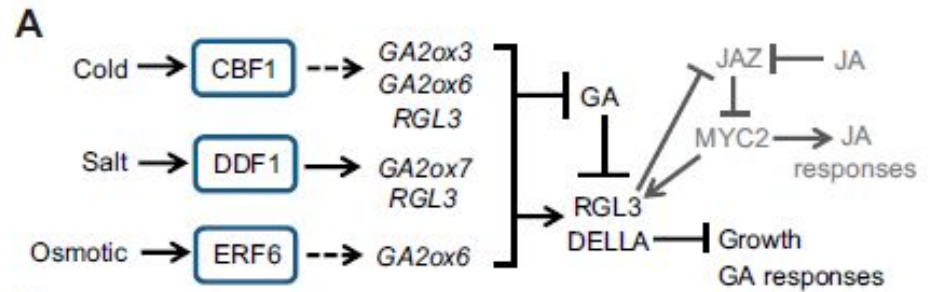
Heteromannan abundance



Антагонизм ГК и АБК в контроле периода покоя и ответа на абиотический стресс



Genotype: WT 35S:GA20ox *ga20ox1/2* *ga2ox* *ga3ox1/2* *ga20ox1/2/3*
 GAstatus: Normal High Reduced High Reduced Very low

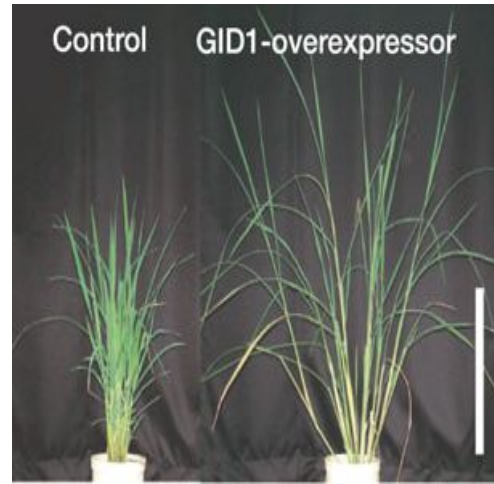
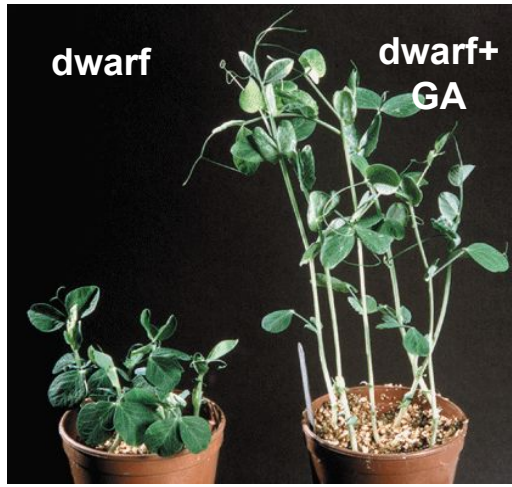


B

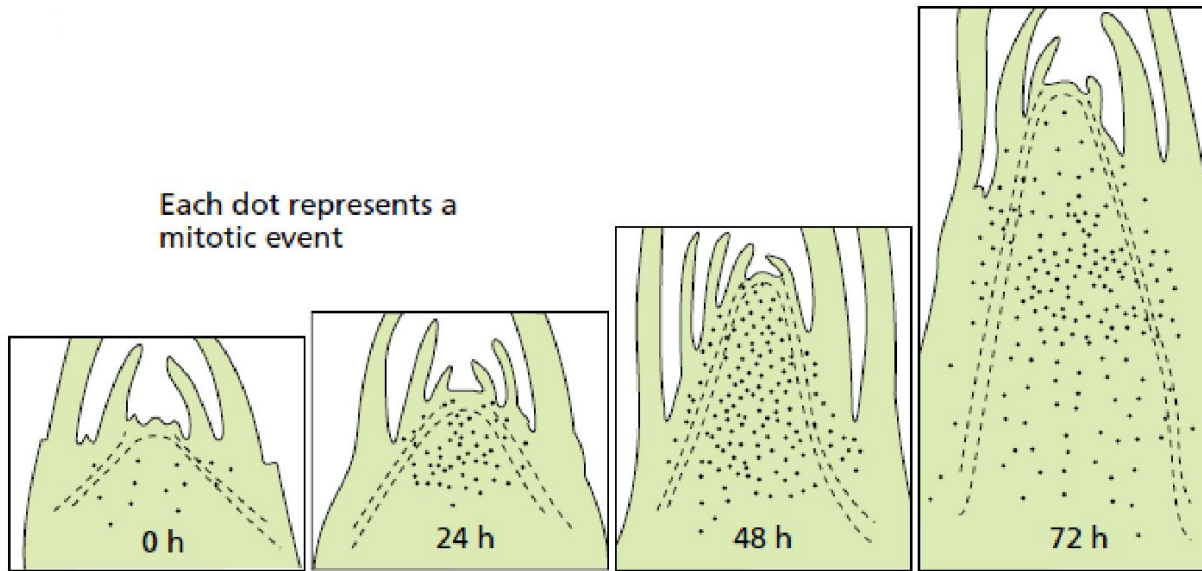
	GA20ox		GA3ox		GA2ox					RGL3	
	1	2	5	1	2	1	2	3	4		6
Cold (late, rosette)	●					●		●		●	●
Dehydration (1 h, rosette)				●			●			●	●
Dehydration (4 h, rosette)				●		●	●			●	●
Osmotic (3 h, shoot)				●		●	●			●	●
Osmotic (late, root)							●			●	●
Salt (late, root)			●	●	●		●		●	●	
Salt (6 days, leaf)			●				●			●	
Submergence (24 h, rosette)	●					●					●

-2.5 **log₂ ratio** 2.5

Функции гиббереллинов в развитии растений: удлинение междоузлий и листьев

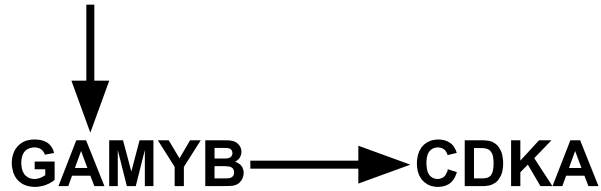


Удлинение междоузлий и листьев:

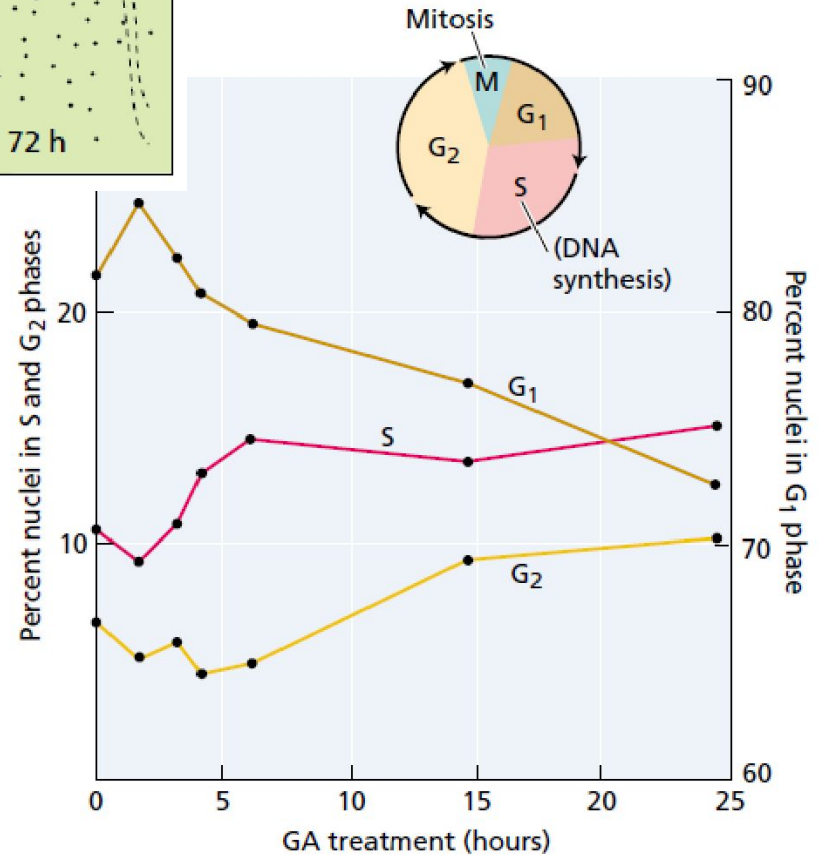


1). Стимуляция пролиферации клеток

гиббереллины

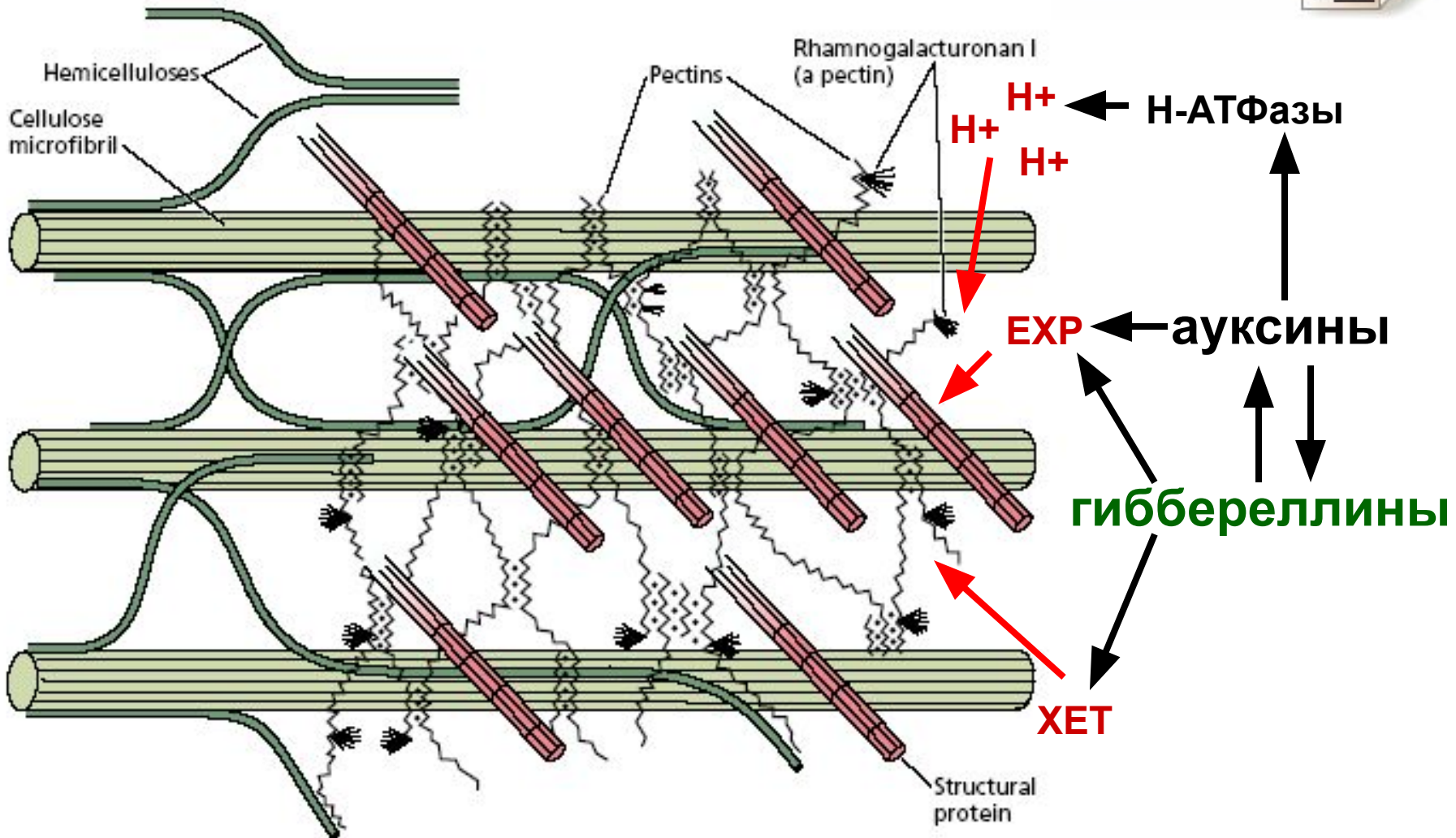
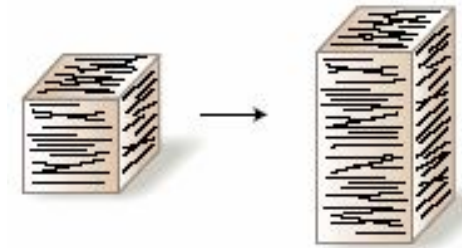


клеточный цикл

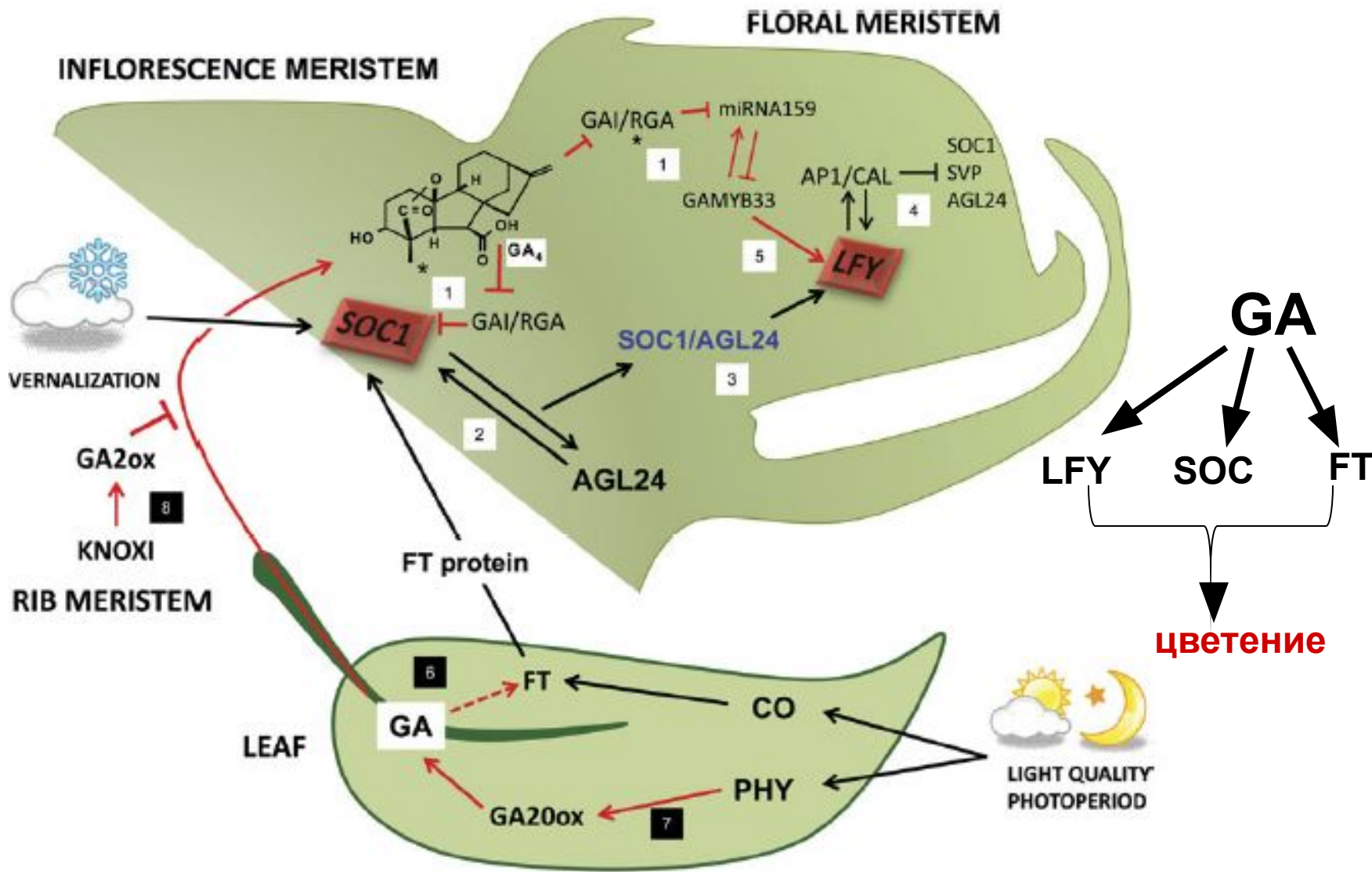


Удлинение междоузлий и листьев:

2). Растяжение клеточных стенок



Функции гиббереллинов в развитии растений: переход к цветению

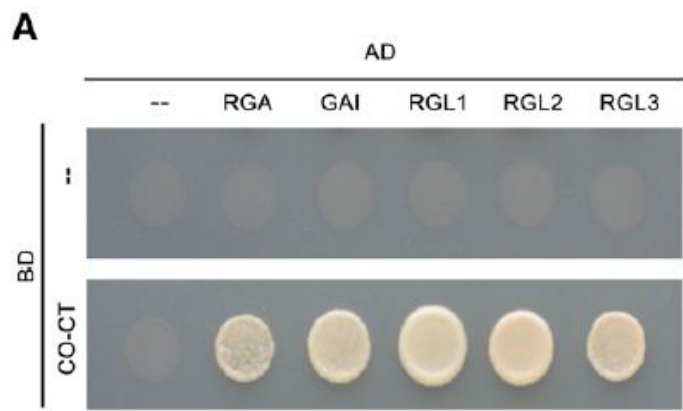




Множественные мутации по DELLA супрессируют мутацию *constans*

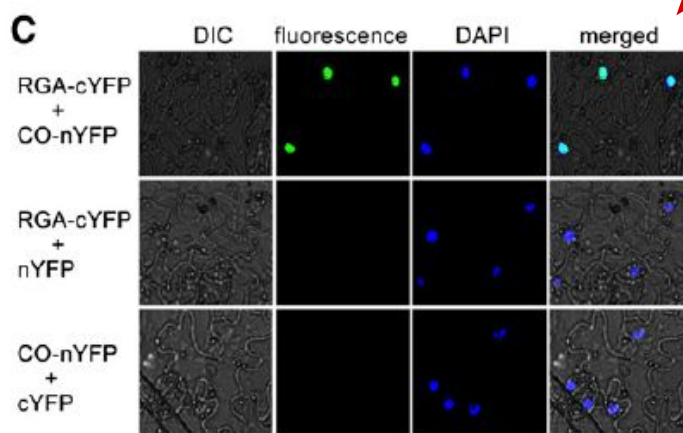
Белки DELLA взаимодействуют с ТФ CONSTANS (основной регулятор цветения при длинном дне)

Анализ взаимодействия DELLA-CONSTANS:



Дрожжевая двугибридная система

BiFC (Bimolecular Fluorescent Complementation)
YFP - репортер
DAPI - маркирует ядра



Экспрессия генов DELLA осциллирует в течение суток (как и экспрессия CONSTANS)

