

© М. Ф. Шишова¹, М. Пахлер²,
Ф. Шталь², Г. Шерер²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет;

² Университет им. Лейбница, Ганновер

✿ **Рост и развитие растений в изменяющихся условиях окружающей среды находится под контролем целого ряда факторов, приводящих к сдвигу гормонального баланса и последующему изменению интенсивности экспрессии гормонзависимых генов. Корнеспецифичная экспрессия ранних ауксининдуцируемых генов семейств *Aux/IAA*, *SAUR*, *ARF* и *GH3* оценена у проростков арабидопсиса с использованием специально разработанных биочипов. Воздействие фитогормона (15, 30 и 60 мин) приводило к устойчивому усилению экспрессии генов *IAA1*, *IAA3*, *IAA5*, *IAA11*, *IAA19*, а также *GH3-1*, *GH3-3*, *GH3-5*. Увеличение экспрессии *SAUR9* и *SAUR10* было меньшим по амплитуде и наблюдалось только на 30-й минуте воздействия гормона.**

✿ **Ключевые слова:** арабидопсис; ауксин; экспрессия генов; чип-технология.

ЭКСПРЕССИЯ РАННИХ АУКСИНЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ АРАБИДОПСИСА

ВВЕДЕНИЕ

Рост и развитие растений находятся под постоянным действием большого числа абиотических и биотических факторов, в том числе неблагоприятных. Возникающие ответные адаптационные механизмы опираются на активацию комплекса регуляторных систем как на уровне клетки, так и на уровне всего организма. Одной из важнейших систем, осуществляющих управление развитием растительного организма, является гормональная система, насчитывающая в настоящее более 15 рострегулирующих соединений. Особое внимание исследователей обращено к выявлению биохимических, физиологических и молекулярно-генетических основ многообразия действия фитогормона ауксина (индоллил-3-уксусная кислота, ИУК), химически очень простой молекулы, регуляторные свойства которой проявляются уже на самых ранних этапах эволюции растительного мира (Bari, Jones, 2009; Patel, Franklin, 2009; Chehab et al., 2009). К числу таковых можно отнести динамичный баланс концентрации эндогенного фитогормона, изменение числа рецепторов, направленностью трансдукционных путей, физиологическим состоянием клеток-мишеней и т. д. Исследования последних десятилетий предоставили достаточно большое число данных о регуляторном действии ауксина на экспрессию генов. Усиление экспрессии некоторых из них может быть зарегистрировано уже через 5–15 мин после начала воздействия фитогормона (Abel, Theologis, 1996; Guilfoyle, 1999; Hagen, Guilfoyle, 2002). Эти гены, активация которых протекает без участия ауксининдуцированного синтеза белков, принято относить к группе ранних генов или группе генов первичного ответа. К их числу можно причислить гены таких семейств как *Aux/IAA*, *SAUR* и *GH3*.

Гены *Aux/IAA*

Гены *Aux/IAA* (Auxin/INDOLE-3-ACETIC ACID) были идентифицированы как быстро активируемые при действии ауксина на гипо- и эпикотили (Walker, Key, 1982; Hagen et al., 1984; Theologis et al., 1985). Они представлены мультигенными семействами у арабидопсиса (Liscum, Reed, 2002), сои (Ainley et al., 1988), гороха (Oeller et al., 1993), томата (Nebenfuhr et al., 2000), табака (Dargeviciute et al., 1998) и других растений. Усиление экспрессии данной группы генов наблюдается при ауксинзависимом росте растяжением. Накопление мРНК *Aux/IAA* специфично индуцируется физиологически активными ауксинами, а также в присутствии ингибитора синтеза белка циклогексимида (Guilfoyle, 1999).

Белки, кодируемые генами семейства *Aux/IAA*, имеют молекулярную массу 20–36 кДа, локализованы в ядре и являются короткоживущими (Abel et al., 1994; Abel, Theologis, 1995). Белки характеризуются наличием четырех консервативных доменов I, II, III и IV (Abel et al., 1995). Домены II и III имеют функциональное значение, отвечая за убиквитинизацию белков (домен II) и димеризацию/мультимеризацию (домен III), а также взаимодействие с белками ARF (Abel et al., 1994; Ouellet et al., 2001). Значение доменов I и IV пока не установлено. Предполагается, что домен I может участвовать в гомодимеризации белков *Aux/IAA* (Ouellet et al., 2001).

Особое внимание уделяется белкам *Aux/IAA* в связи с их участием в трансдукции ауксинового сигнала, воспринятого рецептором TIR1 (Hao, Yang, 2010). Ранее белок TIR1 был отнесен к системе ауксинрегулируемой убиквитинизации, приводящей к деградации белков *Aux/IAA* (Dharmasiri,

Поступила в редакцию 05.11.2013
Принята к публикации 26.06.2014

Estelle, 2004). Эти белки являются негативными регуляторами ауксинзависимой экспрессии генов, благодаря своей способности к связыванию с белками ARF (Auxin Response Factor). TIR1 входит в состав обширной группы белков, содержащих домен F-box, и отвечает за специфичность связывания фитогормона.

Показано, что ИУК непосредственно связывается с белком TIR1, что активирует E3-лигазу убиквитинового комплекса. Тем не менее следует заметить, что растения арабидопсиса, дефектные по гену *TIR1*, не проявляют специфичного фенотипа. Лишь множественная мутация по генам *TIR1*, *AFB1*, *AFB2* и *AFB3* (три последних гена являются близкими гомологами *TIR1*) приводит к развитию дефектного фенотипа (Dharmasiri et al., 2005).

Гены SAUR

Семейство генов *SAUR* (small-auxin-up-RNAs) было идентифицировано при исследовании роста растяжением гипокотилей, обработанных ауксином (McClure, Guilfoyle, 1987). Появление их транскриптов было зарегистрировано уже через 2–5 мин после внесения фитогормона. Анализ последовательности кДНК трех транскриптов *SAUR* и последующий анализ соответствующих генов позволили сделать вывод, что они не содержат интронов (McClure et al., 1989). Кодированные белки имеют молекулярную массу 9–10 кДа и консервативную область на С-конце. В дальнейшем гены *SAUR* были идентифицированы у гороха (Guilfoyle et al., 1993), арабидопсиса (Gil et al., 1994), кукурузы (Yang, Poovaiah, 2000) и т. д. У арабидопсиса выявлено более 70 *SAUR* генов, многие из которых организованы в кластеры.

Предполагается, что время жизни мРНК и белков *SAUR* может регулироваться на пост-транскрипционном уровне (Hagen, Guilfoyle, 2002). Функциональное значение белков, кодируемых генами *SAUR*, недостаточно изучено, тем не менее ряд экспериментальных данных указывает, что они могут быть вовлечены в трансдукцию ауксинового сигнала с участием кальмодулина. Способность связывать кальмодулин была показана для N-конца белка SAUR-AC1 (SMALL AUXIN UP RNA 1 FROM ARABIDOPSIS THALIANA ECOTYPE COLUMBIA, Yang, Poovaiah, 2000).

Гены GH3

Уровень мРНК генов *GH3* резко увеличивается в течение 5 мин после внесения ауксина, что было продемонстрировано на проростках сои (Hagen, Guilfoyle, 1985). Выявленный эффект был специфичен для физиологически активных ауксинов. Ауксинрегулируемые гены семейства *GH3* были обнаружены также у табака (Roux, Perrot-Rechenmann, 1997), арабидопсиса (Hagen, Guilfoyle, 2002), у мха *Physcomitrella patens* (Bierfreund et al., 2004) и у зеленой водоросли *Synechocystis* sp. (Pаропов et al., 2008). Функциональный анализ мутантов арабидопсиса по ряду генов семейства *GH3* выявил учас-

тие, по крайней мере, нескольких белков, кодируемых этими генами, в трансдукции не только гормонального (ауксина), но и светового (дальний красный) сигналов при фототропизме (Tian, Reed, 1999).

Гены *GH3* кодируют цитоплазматические белки массой 70 кДа (Wright et al., 1987; Hagen et al., 1991). Для некоторых белков *GH3* была выявлена способность конъюгировать растительные фитогормоны с аминокислотами *in vitro* (Staswick et al., 2002). По структуре и субстратной специфичности, белки *GH3* арабидопсиса делятся на 3 группы. Группа I представлена двумя белками, катализирующими связывание жасмоновой кислоты с аминокислотами. Группа II, включая AtGH3а, конъюгирует ИУК. Представители группы III не активны в отношении фитогормонов (жасмонаты, салицилаты или ИУК), и их функция до сих пор не известна (Staswick et al., 2005).

Транскрипционные факторы ARF

Несмотря на различия в структуре вышеперечисленных групп генов они характеризуются одной общей особенностью — наличием в промоторной области TGTCTC последовательности — ауксинзависимого элемента (auxin responsive elements) (Ulmasov et al., 1997a, b). Впоследствии были выявлены ARF — короткоживущие ядерные белки, выполняющие функцию транскрипционных факторов, специфично связывающихся с промоторами ауксининдуцируемых генов.

Накопленные данные свидетельствуют о важности каждой из перечисленных групп генов в направленном изменении морфогенеза под действием ауксина, концентрация которого в различных тканях варьирует при действии неблагоприятных факторов окружающей среды. Абсолютное большинство данных экспрессионного анализа получено с использованием целых проростков, что затрудняет их использование для характеристики развития различных органов и тканей растения. Расшифровка механизмов, определяющих интенсивность тканеспецифичной экспрессии ауксининдуцируемых генов, лежит в основе понимания механизмов адаптации растительного организма к факторам среды. Данное исследование нацелено на выявление специфичного изменения экспрессии ауксинрегулируемых генов в корнях проростков арабидопсиса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал

Семена арабидопсиса *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., экотип Columbia, поверхностно стерилизовали с использованием 70 %-го этанола, водного 5 %-го раствора гипохлорита натрия (NaClO) и triton X-100, промывали дистиллированной водой и помещали на 1–2 суток в холодильник для яровизации. Затем семена помещали в 6-луночные планшеты из расчета 20 семян на лунку,

содержащую 5 мл среды Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962) с пониженным (1 %) содержанием сахара. Планшеты помещали на ротационный шейкер (80 об./мин) для элиминации гравитропической реакции и равномерного снабжения проростков кислородом. Выращивание проводили на свету (длина светового периода — 19 часов). На 10-й день проростки обрабатывали раствором ИУК в концентрации 10 мкМ, приготовленном на среде выращивания. В контрольных растениях питательную среду меняли на свежую. В работе было использовано 4 варианта: контрольные проростки (временная точка 0); проростки, обработанные гормоном в течение 15, 30 и 60 минут. Изолированные корни помещали в специальные пробирки, содержащие циркониевые шарики для последующей гомогенизации и хранили при температуре -70°C до начала выделения РНК. Эксперимент имел двукратную биологическую повторность.

Выделение РНК

Гомогенизацию растительных тканей (150–200 мкг) проводили в присутствии 1 мл Trizol (TRIzol® Reagent) на установке FastPrep EP 120 (Thermo Savant BIO101) за 60–90 с. Далее пробы центрифугировали при 12000 g. Полученный супернатант смешивали с хлороформом и посредством фазового разделения получали водную фракцию, обогащенную РНК. К этой фракции добавляли изопропанол для осаждения РНК, центрифугировали, полученный осадок промывали 70 %-м этанолом, высушивали в токе воздуха, а затем растворяли в стерильной деионизованной воде. Далее проводили определение количества РНК в пробе на спектрофотометре NanoDrop ND-1000. Количество РНК варьировало в диапазоне от 500 до 4500 нг в пробе. Качество полученного образца определяли по интегральному показателю сохранности РНК (RIN — RNA Integrity Number) с помощью Биоанализатора Agilent 2100.

Подготовка чипов для анализа экспрессии генов интереса

Нанесение олигонуклеотидов, комплементарных участкам генов интереса (см. таблицу), проводили на стекла (CSS-100 Silylated Slides (Aldehyde), nuclease-free slides for DNA MicroArrays) с помощью печатающего устройства, после чего проводили процедуру фиксации. Для этого биочипы помещали сначала на 3 мин под ультрафиолетовый свет (254 нм), затем в термостат на 2 часа при 80°C и, наконец, на 24 часа оставляли при комнатной температуре.

На следующий день проводили процедуру активации поверхности биочипов. Для этого стекла последовательно обрабатывали растворами 0,2 % SDS и боратно-спиртовым раствором (1 gNaBH₄ + 300 ml Na-фосфатного буфера, pH 7,2 + 100ml ethanol). После каждой инкубации слайды промывали дистиллированной водой. В завершении их высушивали в токе воздуха. Для окончатель-

ной фиксации биочипы помещали на 45 мин в раствор, содержащий 0,1 % SDS и 1 % бычий сывороточный альбумин, при 42°C . Далее слайды многократно промывали дистиллированной водой и высушивали током воздуха. Готовые слайды хранили при комнатной температуре в темноте.

Анализ экспрессии генов

Для повышения эффективности проводимого анализа при низких концентрациях РНК нами был использован набор реагентов MICROMAX™, TSA™ LABELING AND DETECTION KIT. Основная последовательность проводимых реакций по протоколу производителя заключается в следующем:

1. Проводили синтез кДНК в присутствии меченых флуоресцентными зондами нуклеотидных аналогов. В результате синтезировались 2 пробы кДНК: меченая флуоресцином (FL) и биотином (B). Полученную кДНК очищали с использованием специальной мембранной колонки, входящей в набор.
2. Очищенную пробу кДНК наносили на биочип и оставляли для гибридизации на ночь при температуре 42°C на шейкере (Thermomixer Comfort, Eppendorf). Пробу наносили только на область, где «напечатаны» олигонуклеотиды. Далее эту область накрывали покровным стеклом и герметизировали. На один чип обычно наносили кДНК-FL, полученную из одной пробы РНК, и кДНК-В, полученную из другой пробы РНК.
3. «Проявку» результатов гибридизации осуществляли с помощью репортерных зондов Cyapine 3 и Cyanine 5.
4. Анализ интенсивности экспрессии проводили с помощью чип-ридера Gene Pix 4000B (Axon Instrument).

Оценка уровней экспрессии генов.

Анализ флуоресценции, зафиксированный с помощью чип-ридера Gene Pix 4000B, производили с помощью специальной компьютерной программы Gene Pix Pro 6.0™. Флуоресценцию каждой точки нормализовали по отношению к фоновому свечению слайда. Отношение флуоресценции Cyapine 3 и Cyanine 5 рассчитывали для каждого гена. Учитывая 3-кратную повторность нанесения олигонуклеотидов на биочипе, для каждого гена оценивали 12 значений интенсивности флуоресценции. Величину относительной экспрессии генов интереса проводили при сравнении массивов данных с помощью *t*-критерия Стьюдента (при 95 %-м уровне значимости). На графиках представлена кратность изменения экспрессии генов относительно средних значений экспрессии генов интереса, высчитанных по отношению к значениям экспрессии таковых в момент начала эксперимента ($t = 0$ мин). Обсуждаются только изменения относительных уровней экспрессии генов более чем двукратные.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Опираясь на представленные в литературе данные, нами были отобраны гены, характеризующиеся быстрым (в период 30–60 мин) повышением экспрессии при обработке ауксином проростков арабидопсиса (Abel, Theologis, 1996; Goda et al., 2002, 2008; Pufky et al., 2003; Scherer et al., 2007). Олигонуклеотиды, комплементарные участкам данных генов (список генов представлен в таблице 1) были использованы для дизайна чипов, которые были применены для изучения интенсивности ауксинзависимой экспрессии генов в корнях проростков арабидопсиса.

Проведенный анализ экспрессии показал, что не все гены отличаются увеличением экспрессии после внесения ауксина. На рисунке 1 приведены данные ауксининдуцированной экспрессии генов семейства *IAA*. Можно видеть, что только 5 из исследованных генов характеризовались увеличением экспрессии через час после начала гормонального воздействия. Для *IAA1* и *IAA11* увеличение экспрессии начиналось очень быстро — уже в первые 15 мин. Через полчаса к их числу присоединялись еще 2 гена: *IAA3* и *IAA19*. По истечении часа повышение экспрессии регистрировали и для *IAA5*.

Таблица 1

Список ауксининдуцируемых генов, олигонуклеотиды, комплементарные которым, были использованы для изготовления чипов

Название гена	Название локуса	Название гена	Название локуса
семейство <i>IAA</i>		семейство <i>ARF</i>	
<i>IAA1</i>	<i>AT4G14560</i>	<i>ARF6</i>	<i>AT1G30330</i>
<i>IAA2</i>	<i>AT3G23030</i>	<i>ARF7</i>	<i>AT5G20730</i>
<i>IAA3</i>	<i>AT1G04240</i>	<i>ARF8</i>	<i>AT5G37020</i>
<i>IAA4</i>	<i>AT5G43700</i>	<i>ARF19</i>	<i>AT1G19220</i>
<i>IAA5</i>	<i>AT1G15580</i>		
<i>IAA6</i>	<i>AT1G52830</i>	семейство <i>SAUR</i>	
<i>IAA7</i>	<i>AT3G23050</i>	<i>SAUR-1</i>	<i>AT4G34770</i>
<i>IAA8</i>	<i>AT2G22670</i>	<i>SAUR-7</i>	<i>AT2G21200</i>
<i>IAA9</i>	<i>AT5G65670</i>	<i>SAUR-9</i>	<i>AT4G36110</i>
<i>IAA11</i>	<i>AT4G28640</i>	<i>SAUR-10</i>	<i>AT2G18010</i>
<i>IAA12</i>	<i>AT1G04550</i>	<i>SAUR-14</i>	<i>AT4G38840</i>
<i>IAA13</i>	<i>AT2G33310</i>	<i>SAUR-25</i>	<i>AT4G13790</i>
<i>IAA14</i>	<i>AT4G14550</i>	<i>SAUR-46</i>	<i>AT2G37030</i>
<i>IAA19</i>	<i>AT3G15540</i>	<i>SAUR-AC1</i>	<i>AT4G38850</i>
семейство <i>GH3</i>		Другие	
GH3–1	<i>AT2G14960</i>	белок семейства F-box	<i>AT1G78100</i>
GH3–2	<i>AT4G37390</i>	ядерный транскрипционный фактор, содержащий homebox-leucine zip домен	<i>AT5G47370</i>
GH3–3	<i>AT2G23170</i>	белок, похожий на убиквитин-специфичную протеазу 12	<i>AT2G32870</i>
GH3–5	<i>AT4G27260</i>	предполагаемый транскрипционный фактор с цинковыми пальцами	<i>AT5G04340</i>
		предполагаемый транскрипционный фактор	<i>AT1G74650</i>
		предполагаемый репрессор транскрипционного фактора с цинковыми пальцами	<i>AT1G27730</i>
		белок, подобный EF-1 транскрипционному фактору	<i>AT4G22780</i>
		MYB- транскрипционный фактор	<i>AT5G58340</i>
		MYB- транскрипционный фактор	<i>AT5G11050</i>

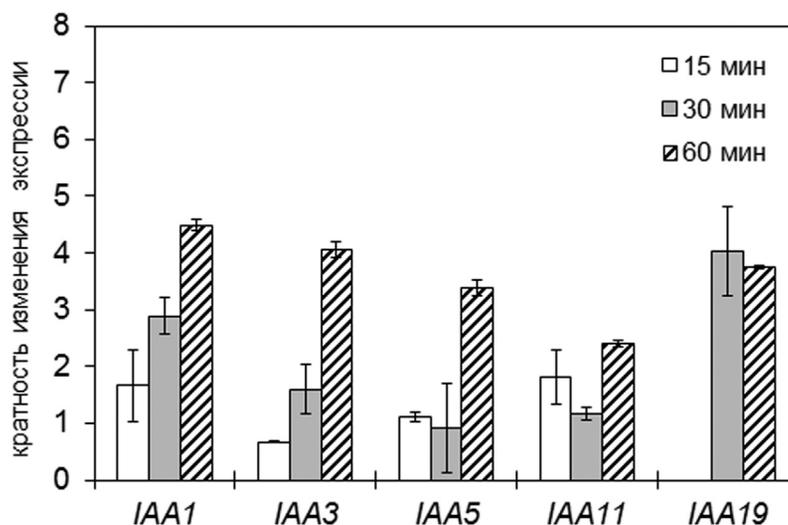


Рис. 1. Уровень корнеспецифичной экспрессии генов семейства *Aux/IAA* при действии ИУК (10^{-5} М) на проростки арабидопсиса в течение 15, 30 и 60 минут

Несколько иным был профиль экспрессии группы *GH3* (рис. 2). Из четырех исследованных генов три характеризовались усилением экспрессии, причем уже к 15-й минуте действия гормона. Наиболее интенсивное увеличение экспрессии было отмечено для *GH3-3*. Для гена *GH3-2* увеличение экспрессии было кратковременным и возвращалось к исходному уровню уже к 30-й минуте.

Анализ экспрессии генов семейства *SAUR* выявил нелинейный во времени характер накопления транскриптов. Первые 15 мин после начала гормонального воздействия характеризовались снижением экспрессии всех исследованных представителей данного семейства (рис. 3). Лишь на 30-й мин воздействия слабую стимуляцию экспрессии идентифицировали для *SAUR9* и *SAUR10* генов.

В дальнейшем (через 60 мин) экспрессия снова снижалась, но изменение экспрессии не превышали двукратного.

Слабо отзывчивыми (усиление не было статистически достоверным) в исследуемый интервал времени оказались и представители семейства *ARF*, кодирующие транскрипционные факторы. В связи с этим мы не приводим эти результаты.

Помимо перечисленных семейств, усилением экспрессии характеризовался ряд генов, предположительно кодирующих транскрипционные факторы или белки, имеющие сходство с белками-трансдукторами гормонального сигнала (табл. 1). Можно видеть, что 2 из 9 генов этой группы уже через 15 мин после начала воздействия усиливали экспрессию (рис. 4). Тем не менее интенсивность

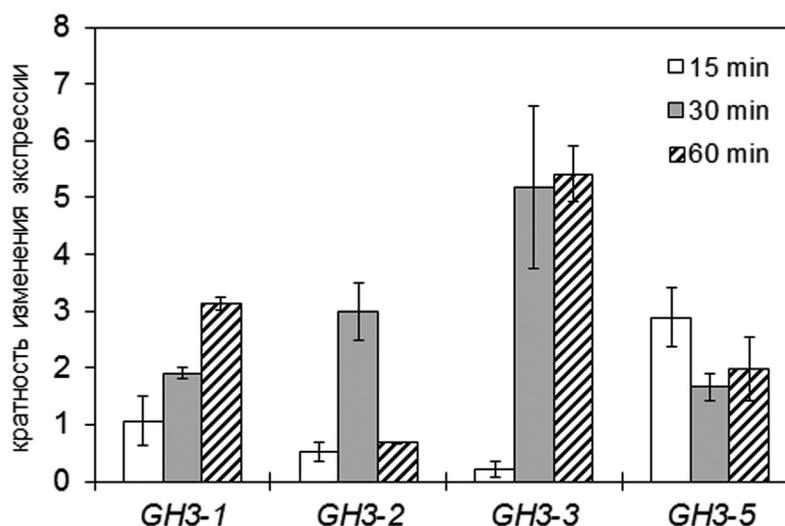


Рис. 2. Уровень корнеспецифичной экспрессии генов семейства *GH3* при действии ИУК (10^{-5} М) на проростки арабидопсиса в течение 15, 30 и 60 минут

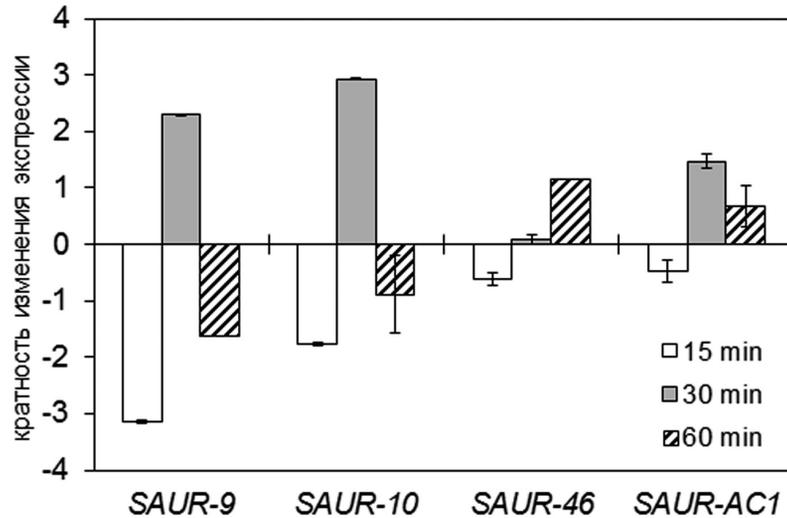


Рис. 3. Уровень корнеспецифичной экспрессии генов семейства *SAUR* при действии ИУК (10^{-5} M) на проростки арабидопсиса в течение 15, 30 и 60 минут

экспрессии в значительной степени падала в ходе часовой инкубации, когда своего максимума достигала экспрессия гена, кодирующего F-box-содержащий белок.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Использование метода технологии микрочипов позволяет одновременно оценить экспрессию большого числа генов и выявить изменение их экспрессии при действии того или иного фактора. Данный метод был применен для идентификации ауксининдуцированной экспрессии у це-

лого ряда растений. Особо пристальное внимание уделено изменениям, происходящим в первые 1–3 часа после начала воздействия. Для растений арабидопсиса при анализе 24000 генов (чипы для диагностики активности всего генома) было показано накопление транскриптов 222 генов, в том числе *Aux/IAA*, *SAUR* и *GH3* (Redman et al., 2004). В этом исследовании сравнительный анализ экспрессии генов выявил, что не все представители этих групп характеризовались ранним откликом на внесение гормона. Способностью усиливать экспрессию отличались лишь 19 из 77 генов *SAUR*, 15 из 36 *Aux/IAA*

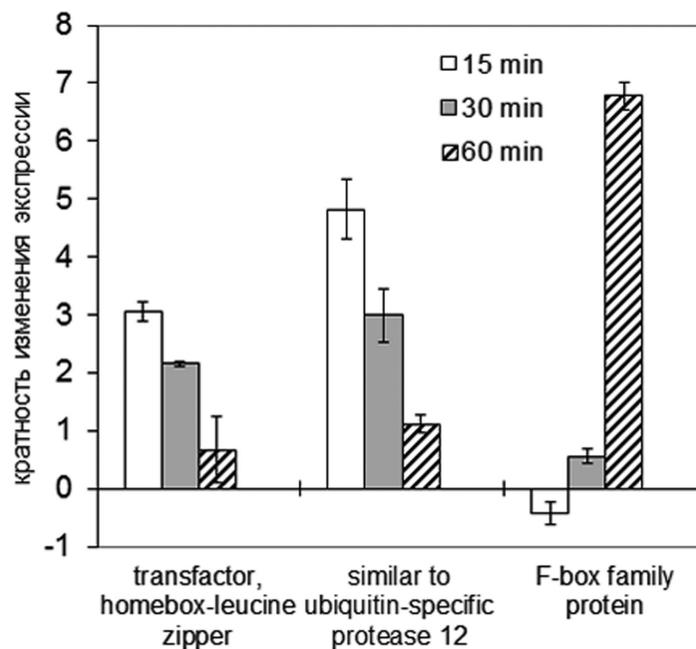


Рис. 4. Уровень корнеспецифичной экспрессии генов *AT5G47370*, *AT2G32870* и *AT1G78100* при действии ИУК (10^{-5} M) на проростки арабидопсиса в течение 15, 30 и 60 минут

и 5 из 20 *GH3*. Сходный феномен различной отзывчивости генов перечисленных групп был отмечен еще в ряде исследований (Esmon et al., 2006; Hager, Guilfoyle, 2002; Rapoport et al., 2008; Pufky et al., 2003). Причина этого феномена может быть опосредована временной и тканевой специализацией экспрессии при действии гормона. Последнее редко принимается авторами во внимание в связи с использованием для анализа целых проростков арабидопсиса. Косвенно это подтверждается различием ауксининдуцированной экспрессии анализируемых генов в корнях и побегах проростков арабидопсиса (Шишова и др., 2011). Вторая причина может заключаться в концентрации гормона, оказывающего воздействие на различные органы проростка. При работе с целыми проростками и развитыми органами растения арабидопсис традиционно используют достаточно высокие до 10 мкМ ауксина, что может оказывать негативное действие на гормониндуцированные процессы, например, в корне.

Проведенное нами исследование было сфокусировано на анализе экспрессии ауксининдуцированных генов в корнях проростков арабидопсиса при увеличении длительности гормонального воздействия. Для этого были разработаны биочипы, позволяющие проанализировать экспрессию ограниченного числа генов, относящихся к семействам *Aux/IAA*, *SAUR* и *GH3* (табл. 1). Полученные результаты (рис. 1–4) свидетельствуют о том, что корневая система проростков арабидопсиса характеризуется увеличением экспрессии лишь небольшого количества генов.

Из 14 проанализированных генов группы *Aux/IAA* лишь пять характеризовались усилением накопления транскриптов в ответ на действие ауксина: *IAA1*, *IAA3*, *IAA5*, *IAA11*, *IAA19*. Можно отметить, что общей особенностью характера экспрессии этих генов является постепенное ее возрастание с продолжительностью действия гормона. Ранее было показано, что ген *IAA1* экспрессируется в ходе развития проростка арабидопсиса с максимальным накоплением РНК в корнях, соцветиях и цветках (Yang et al., 2004). Усиление его экспрессии наблюдается уже через 4 минуты после воздействия ауксина (Abel, Theologis, 1996) и продолжается достаточно долго, что указывает на широкий спектр его действия в ауксинрегулируемых процессах. С использованием различных подходов к выявлению функциональной значимости *IAA1* гена было установлено, что повышение стабильности кодируемого им белка приводит к ингибированию закладки латеральных корней, роста гипокотыля, удлинения листьев, а также формирования проводящей системы побега проростков арабидопсиса (Park et al., 2002; Yang et al., 2004; Ku et al., 2009). Эти данные согласуются с общим представлением о том, что продукт гена *IAA1* участвует в трансдукции ауксинового сигнала за счет быстрой деградации в результате TIR-зависимой убиквитинизации. Известно также, что *IAA1* регулирует (ингибирует) не только собственный синтез, но и синтез ряда представителей семейства *Aux/IAA*, например *IAA5* (Lee et al., 2009). Известно,

что нарушения в кодировании *IAA3* приводят к появлению сходного с *iaa1* фенотипа, характеризующегося большими по размеру семядолями, коротким гипокотилем и т.д., что указывает на сходную «ингибиторную функцию» гена в регуляции ауксинового ответа (Tian et al., 2002). Было показано, что *IAA3* также участвует в регуляции экспрессии ряда генов *Aux/IAA*, в том числе *IAA5*. По нашим данным, именно ген *IAA1* характеризуется наиболее быстрым откликом при действии ауксина. Эффект стимуляции регистрировался на протяжении всего времени воздействия гормона на проростки арабидопсиса. Значимое усиление экспрессии генов *IAA3* и *IAA5*, напротив, регистрировалось лишь при более длительном воздействии гормона. Изменение экспрессии гена *IAA11* имело ту же тенденцию, но ее усиление не превышало 2,5 раза, что позволяет нам судить лишь о сходных тенденциях. Несколько иной динамикой отличалась экспрессия гена *IAA19*. Она достигала максимума к 30 мин действия гормона и далее сохранялась на достаточно высоком уровне, что соответствует литературным данным (Tatematsu et al., 2004). Следует подчеркнуть, что ранее были выявлены отличия в профиле экспрессии гена *IAA19* по отношению к другим представителям семейства *Aux/IAAs*. РНК *IAA19* не детектируется в листьях и соцветиях, что функционально подтверждается сильным ингибированием экспрессии данного гена под действием света. Визуализация белка *IAA19* показала отличия его локализации от ряда других белков, кодируемых генами *Aux/IAAs* в корнях (Muto et al., 2007). Кроме того, экспрессия гена *IAA19* находилась под контролем не только ауксина, но и света, однако была нечувствительна по отношению к сахарам, по сравнению с экспрессией *IAA3*, также отличающегося достаточно сильной экспрессией в гипокотылях (Tatematsu et al., 2004). В целом можно заключить, что при действии ауксина на проростки арабидопсиса в корнях регистрируется быстрая и усиливающаяся со временем активация экспрессии гена *IAA1*. Более поздняя (после 1 часа действия ауксина) отзывчивость генов *IAA3* и *IAA5* указывает на возможность кросс-регуляции генов данной группы. Напротив, для гена характерен *IAA19* быстрый и интенсивный отклик уже на 30 мин, который сохраняется весь последующий период исследования, что может свидетельствовать о приоритетном значении данного гена в формировании ответной ростовой реакции корня.

В настоящее время доказано, что убиквитинизация белков семейства *Aux/IAA* приводит к высвобождению транскрипционных факторов семейства ARF, регулирующих интенсивность экспрессии ауксинчувствительных генов (Mockaitis, Estelle, 2008). Проведенный нами анализ, к сожалению, не выявил накопления в корнях проростков арабидопсиса транскриптов ни одного из четырех исследованных генов этой группы при обработке ауксином.

В тоже время полученные нами данные о быстром и интенсивном увеличении экспрессии генов группы *GH3* полностью соответствуют результатам предшествующих

исследований. Все исследованные нами гены относятся к группе II *GH3*, кодирующей ферменты, отвечающие за конъюгацию ауксина с аминокислотами, что может рассматриваться как первый этап в инициации катаболизма ИУК (Staswick et al., 2005). Тем самым ауксин обладает способностью не только усиливать интенсивность трансдукции своего сигнала, как в случае семейства *Aux/IAA*, но и активно участвовать в авторегуляции своей концентрации. Этот феномен может иметь особое регуляторное значение в определении специфичности и интенсивности индуцируемого ответа. В литературе отмечалось, что у арабидопсиса ряд генов группы *GH3*, например, *GH3.2* и *GH3.5*, характеризуются корнеспецифичной экспрессией или экспрессируются при закладке латеральных корней (Takase et al., 2004; Zhang et al., 2008). В связи с этим представляет интерес выявление особенностей в динамике экспрессии генов данного семейства в корнях при действии ауксина. К сожалению, нам не удалось выявить общую тенденцию в гормониндуцированной экспрессии генов группы *GH3*. Было показано, что кратковременная экспрессия характерна для генов *GH3-1* и *GH3-2*, а для *GH3-5* — стабильная, но близкая к пороговой (2-кратная). Только ген *GH3.3* отличался быстрым и значительным накоплением РНК, сохраняющимся и после часа воздействия ауксина, что может указывать на особую роль этого гена в регуляции концентрации свободного гормона в развитии корня.

Последующий анализ выявил несколько иную тенденцию для генов группы *SAUR*. Слабое увеличение уровня транскриптов регистрировалось только на 30-й мин после начала воздействия лишь для генов *SAUR9* и *SAUR10*. Более интенсивное усиление экспрессии представителей семейства было нами показано для листьев проростков арабидопсиса (Шишова и др., 2011). Можно предположить, что хорошо известные данные об ауксинзависимом повышении накопления транскриптов для генов этого семейства были получены на целых проростках или же с использованием хорошо развитых органов. Полученные нами и имеющиеся в литературе данные указывают на то, что участие генов *SAUR* в трансдукции гормонального сигнала в корнях проростков арабидопсиса ограничено достаточно узким временным интервалом. Это положение остается в большой степени дискуссионным, так как в настоящее время недостаточно данных о возможной физиологической роли продуктов указанных генов.

Наряду с генами семейств *Aux/IAA*, *GH3* и *SAUR*, характеризующихся доказанной чувствительностью к ауксину, нами была проанализирована экспрессия ряда генов, которые, по литературным данным, также отличались быстрым накоплением продуктов трансдукции. В первую очередь была исследована экспрессия генов, кодирующих транскрипционные факторы и/или белки, принимающие участие в трансдукции гормональных сигналов (табл. 1). Краткосрочной и достаточно сильной отзывчивостью характеризовались гены *AT5G47370* (кодирует транскрип-

ционный фактор, характеризующийся наличием «лейциновой застежки», *homeobox-leucine zipper*) и *AT2G32870* (кодирует белок, аналогичный убиквитин-специфичной протеазе 12). Тем не менее экспрессия этих генов очень быстро возвращалась к исходному значению. Напротив, экспрессия гена *AT1G78100*, кодирующего F-box содержащий белок, возрастала более чем в 6 раз лишь через час ауксинового воздействия. У арабидопсиса идентифицировано около 200 F-box содержащих белков. Несколько ярких представителей относятся к группе рецепторов ауксина. Функция данного белка, кодируемого геном *AT1G78100*, неизвестна, однако временная зависимость накопления продуктов его трансдукции может свидетельствовать о более позднем вовлечении в формирование адаптивного гормониндуцированного физиологического ответа.

В заключение следует отметить, что полученные результаты указывают на наличие специфичного для корней проростков арабидопсиса профиля экспрессии генов раннего ауксинового ответа, который в значительной степени модулируется с увеличением длительности гормонального воздействия. Особое значение, по-видимому, имеет быстрая и интенсивная экспрессия таких генов, как *IAA1*, *IAA19*, *GH3-3*, *AT1G78100*. В ряде случаев интенсивность накопления РНК отличалась от таковой, характеризующей полученные ранее данные с использованием целых проростков арабидопсиса (Abel, Theologis, 1996; Goda et al., 2002). Требуется последующее сравнительное исследование, направленное на выявление различий активации экспрессии в корнях и побегах проростков арабидопсиса при различных по времени воздействиях ауксина.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №13-04-00945-а), Министерства образования и науки РФ (соглашение №8093 от 23.07.2012, проект 2012-1.2.1-12-000-1013-003) и Совместной программы «Михаил Ломоносов II» Министерства образования и науки РФ и DAAD (РНП. 2.2.2.3.16191).

ЛИТЕРАТУРА

1. Шишова М. Ф., Опперман К., Пахлер М., Шталь Ф., Шерер Г. (2011) Орган-специфичная экспрессия ранних ауксин-зависимых генов проростков арабидопсиса. Вестник С.-Петербургского ун-та. Сер. 3. Вып. 3. С. 89–100.
2. Ainley W.M., Walker J.C., Nagao R.T., Key J.L. (1988) Sequence and characterization of two auxin-regulated genes from soybean. J. Biol. Chem. Vol. 263. P. 10658–10666.
3. Abel S., Oeller P.W., Theologis A. (1994) Early auxin-induced genes encode short-lived nuclear proteins. PNAS. Vol. 91. P. 326–330.
4. Abel S., Nguyen M.D., Chow W. et al. (1995) ACS4, a primary indoleacetic acid-responsive gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate syn-

- these in *Arabidopsis thaliana*. Journal Biol. Chem. Vol. 270. P. 19093–19099.
5. Abel S., Theologis A. (1995) A polymorphic bipartite motif signals nuclear targeting of early auxin-inducible proteins related to PS-IAA4 from pea (*Pisum sativum*). Plant J. Vol. 8. P. 87–96.
 6. Abel S., Theologis A. (1996) Early genes and auxin action. Plant Physiology. Vol. 111. P. 9–17.
 7. Bari R., Jones J.D.G. (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. Plant Mol Biol. Vol. 69. P. 473–488.
 8. Bierfreund N. M., Tintelnot S., Reski R., Decker E. L. (2004) Loss of GH3 function does not affect phytochrome-mediated development in a moss, *Physcomitrella patens*. J. Plant Physiol. Vol. 161. P. 823–835.
 9. Chehab E. W., Eich E., Braam J. (2009) Thigmomorphogenesis: a complex plant response to mechanostimulation. J. Exp. Botany. Vol. 60. P. 43–56.
 10. Dargeviciute A., Roux C., Decreux A. et al. (1998) Molecular cloning and expression of the early auxin-responsive Aux/IAA gene family in *Nicotiana tabacum*. Plant Cell Physiol. Vol. 39. P. 993–1002.
 11. Dharmasiri N., Estelle M. (2004) Auxin signaling and regulated protein degradation. Trends Plant Sci. Vol. 9. P. 302–308.
 12. Dharmasiri N., Dharmasiri S., Weijers D. et al. (2005) Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins. Dev. Cell. Vol. 9. P. 109–119.
 13. Esmon C. A., Tinsley A. G., Ljung K. et al. (2006) A gradient of auxin and auxin-dependent transcription precedes tropic growth responses. PNAS. Vol. 103. P. 236–241.
 14. Gil P., Liu Y., Orbovic V. et al. (1994) Characterization of the auxin-inducible SAUR-AC1 gene for use as a molecular genetic tool in *Arabidopsis*. Plant Physiology. Vol. 104. P. 777–784.
 15. Goda H., Sasaki E., Akiyama K. et al. (2008) The At-GenExpress hormone and chemical treatment data set: experimental design, data evaluation, model data analysis and data access. Plant J. Vol. 55. P. 526–542.
 16. Goda H., Shimada Y., Asami T. et al. (2002) Microarray analysis of brassinosteroid-regulated genes in *Arabidopsis*. Plant Physiol. P. 130. P. 1319–1334.
 17. Guilfoyle T.J. (1999) Auxin-regulated genes and promoters. In: Eds. P.J.J. Hooykaas, M. A. Hall, K. R. Libbenga. Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones. Elsevier, Amsterdam. P. 423–459.
 18. Guilfoyle T.J., McClure B.A., Gee M.A., Hagen G. (1993) Auxin-regulated transcription. Aust. J. Plant Physiol. Vol. 20. P. 489–502.
 19. Hagen G., Guilfoyle T.J. (1985) Rapid induction of selective transcription by auxins. Mol. Cell. Biol. Vol. 5. P. 1197–1203.
 20. Hagen G., Guilfoyle T. (2002) Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors. Plant Mol. Biol. Vol. 49. P. 373–385.
 21. Hagen G., Kleinschmidt A., Guilfoyle T. (1984) Auxin-regulated gene expression in intact soybean hypocotyl and excised hypocotyl sections. Planta. Vol. 162. P. 147–153.
 22. Hagen G., Martin G., Li Y., Guilfoyle T.J. (1991) Auxin-induced expression of the soybean GH3 promoter in transgenic tobacco plants. Plant Mol. Biol. Vol. 17. P. 567–579.
 23. Hao G.-F., Yang G.-F. (2010) The role of Phe82 and Phe351 in auxin-induced substrate perception by TIR1 ubiquitin ligase: A novel insight from molecular dynamics simulations. PLoS ONE 5 (5): e10742. doi:10.1371/journal.pone.0010742.
 24. Ku S.J., Park J.Y., Ha S.B., Kim J. (2009) Overexpression of IAA1 with domain II mutation impairs cell elongation and cell division in inflorescences and leaves of *Arabidopsis*. J. Plant Physiol. Vol. 166. P. 548–553.
 25. Lee D.J., Park J.W., Lee H.W., Kim J. (2009) Genome-wide analysis of the auxin-responsive transcriptome downstream of *iaa1* and its expression analysis reveal the diversity and complexity of auxin-regulated gene expression. J. Ex. Botany. Vol. 60. P. 3935–3957.
 26. Liscum E., and Reed, J. W. (2001) Genetics of Aux/IAA and ARF action in plant growth and development. Plant Mol. Biol. Vol. 49. P. 387–400.
 27. McClure B.A., Guilfoyle T.J. (1987) Characterization of a class of small auxin-inducible soybean polyadenylated RNAs. Plant Mol. Biol. Vol. 9. P. 611–623.
 28. McClure B.A., Guilfoyle T. (1989) Rapid redistribution of auxin-regulated RNAs during gravitropism. Science. Vol. 243. P. 91–93.
 29. McClure B.A., Hagen G., Brown C.S. et al. (1989) Transcription, organization, and sequence of an auxin-regulated cluster in soybean. Plant Cell. Vol. 1. P. 229–239.
 30. Mockaitis K., Estelle M. (2008) Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm. Annu Rev Cell Dev Biol. Vol. 24. P. 55–80.
 31. Murashige T., Skoog F. (1962) A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant. Vol. 15. P. 473–497
 32. Muto H., Watahiki M.K., Nakamoto D. et al. (2007) Specificity and similarity of functions of the Aux/IAA genes in auxin signaling of *Arabidopsis* revealed by promoter-exchange experiments among MSG2/IAA19, AXR2/IAA7, and SLR/IAA14. Plant Physiology. Vol. 144. P. 187–196.
 33. Nebenführ A., White T.J., Lomax T.L. (2000) The diageotropica mutation alters auxin induction of a subset of the Aux/IAA gene family in tomato. Plant Mol. Biol. Vol. 44. P. 73–84.
 34. Oeller P.W., Keller J.A., Parks J.E. et al. (1993) Structural characterization of the early indoleacetic acid-inducible genes, PS-IAA4/5 and PS-IAA6, of pea (*Pisum sativum* L.). J. Mol. Biol. 1993. Vol. 233. P. 789–798.
 35. Ouellet F., Overvoorde P.J., Theologis A. (2001) IAA17/AXR3: biochemical insight into an auxin mutant phenotype. Plant Cell. Vol. 13. P. 829–841.

36. Patel D., Franklin K.A. (2009) Temperature-regulation of plant architecture. *Plant Signaling & Behavior*. Vol. 4. P. 577–579.
37. Park J.Y., Kim H.J., Kim J. (2002) Mutation in domain II of IAA1 confers diverse auxin-related phenotypes and represses auxin-activated expression of Aux/IAA genes in steroid regulator-inducible system. *Plant Journal*. Vol. 32. P. 669–683.
38. Paponov I.A., Paponova M., Tealea W. et al. (2008) Comprehensive Transcriptome Analysis of Auxin Responses in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*. Vol. 1. P. 321–337.
39. Pufky J., Qiu Y., Rao M.V. et al. (2003) The auxin-induced transcriptome for etiolated *Arabidopsis* seedlings using a structure/function approach. *Functional Integrative Genomics*. Vol. 3. P. 135–143.
40. Redman J.C., Haas B.J., Tanimoto G., Town C.D. (2004) Development and evaluation of an *Arabidopsis* whole genome Affymetrix probe array. *Plant Journal*. Vol. 38. P. 545–561.
41. Roux C., Perrot-Rechenmann C. (1997) Isolation by differential display and characterization of a tobacco auxin-responsive cDNA *Nt-gh3*, related to GH3. *FEBS Letters*. Vol. 419. P. 131–136.
42. Scherer G., Zahn M., Callis J., Jones A. (2007) A role for phospholipase A in auxin-regulated gene expression. *FEBS Letters*. Vol. 581. P. 4205–4211.
43. Staswick P.E., Tiryaki I., Rowe M. (2002) Jasmonate response locus JAR1 and several related *Arabidopsis* genes encode enzymes of the firefly luciferase superfamily that show activity on jasmonic, salicylic, and indole-3-acetic acids in an assay for adenylation. *Plant Cell*. Vol. 14. P. 1405–1415.
44. Staswick P.E., Serban B., Rowe M. et al. (2005) Characterization of an *Arabidopsis* enzyme family that conjugates amino acids to indole-3-acetic acid. *Plant Cell*. Vol. 17. P. 616–627.
45. Takase T., Nakazawa M., Ishikawa A. et al. (2004) *ydk1-D*, an auxin-responsive GH3 mutant that is involved in hypocotyl and root elongation. *Plant Journal*. Vol. 37. P. 471–483.
46. Tatematsu K., Kumagai S., Muto H. et al. (2004) MASSUGU2 encodes Aux/IAA19, an auxin-regulated protein that functions together with the transcriptional activator NPH4/ARF7 to regulate differential growth responses of hypocotyl and formation of lateral roots in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*. Vol. 19. P. 379–393.
47. Theologis A., Huynh T.V., Davis R.W. (1985) Rapid induction of specific mRNAs by auxin in pea epicotyl tissue. *J. Mol. Biol.* Vol. 183. P. 53–68.
48. Tian Q., Reed J.W. (1999) Control of auxin-regulated root development by the *Arabidopsis thaliana* SHY2/IAA3 gene. *Development*. Vol. 126. P. 711–721.
49. Tian Q., Uhlir N.J., Reed J.W. (2002) *Arabidopsis* SHY2/IAA3 inhibits auxin-regulated gene expression. *Plant Cell*. Vol. 14. P. 301–319.
50. Ulmasov T., Hagen G., Guilfoyle T.J. (1997) ARF1, a transcription factor that binds to auxin response elements. *Science*. Vol. 276. P. 1865–1868
51. Ulmasov T., Murfett J., Hagen G., Guilfoyle T.J. (1997) Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell*. Vol. 9. P. 1963–1971.
52. Walker J.C., Key J.L. (1982) Isolation of cloned cDNAs to auxin-responsive poly(A+) RNAs of elongating soybean hypocotyl. *PNAS*. Vol. 79. P. 7185–7189.
53. Wright R.M., Hagen G., Guilfoyle T.J. (1987) An auxin-induced polypeptide in dicotyledonous plants. *Plant Mol. Biol.* Vol. 9. P. 625–634.
54. Yang T., Poovaiah B.W. (2000) Molecular and biochemical evidence for the involvement of calcium/calmodulin in auxin action. *J. Biol. Chem.* Vol. 275. P. 3137–3143.
55. Yang X., Lee S., So J.H. et al. (2004) The IAA1 protein is encoded by AXR5 and is a substrate of SCF^{TIR1}. *Plant Journal*. Vol. 40. P. 772–782.
56. Zhang Z., Wang M., Li Z., Li Q., He Z. (2008) *Arabidopsis* GH3.5 regulates salicylic acid-dependent and both NPR1-dependent and independent defense responses. *Plant Signaling and Behavior*. Vol. 3. P. 537–542.

ROOT-SPECIFIC EXPRESSION OF EARLY AUXIN-REGULATED GENES IN ARABIDOPSIS

Shishova M.F., Pahler M., Stahl F., Scherer G.

✿ **SUMMARY:** At the variable environmental conditions plant growth and development are under the control of different factors triggered shifts in hormonal balance and followed changes in intensity of hormone-induced gene expression. Root-specific expression of early auxin-regulated genes, belonged to *Aux/IAAs*, *SAURs*, *ARFs* и *GH3s* gene families, was tested with specially designed chip. An auxin treatment (15, 30 and 60 min) led to increase of *IAA1*, *IAA3*, *IAA5*, *IAA11*, *IAA19* and *GH3-1*, *GH3-3*, *GH3-5* genes. Intensification of *SAUR9* and *SAUR10* genes expression was less significant and appeared only at 30 min.

✿ **KEY WORDS:** *Arabidopsis*; auxin; gene expression; microarray.

✿ REFERENCES (TRANSLITERATED)

1. Shishova M.F., Opperman K., Pahler M., Shtal' F., Sherer G. 2011. Organ-specificchnaja jekspressija rannih auksin-zavisimyh genov prorostkov arabidopsisa [Organ-specific expression of early auksin-dependent genes in arabidopsis plantlets]. *Vestnik S.-Peterburgskogo un-ta. Ser. 3. Vyp. 3. S. 89–100.*
2. Ainley W.M., Walker J.C., Nagao R.T., Key J.L. 1988. Sequence and characterization of two auxin-regulated genes from soybean. *J. Biol. Chem.* Vol. 263. P. 10658–10666.
3. Abel S., Oeller P.W., Theologis A. 1994. Early auxin-induced genes encode short-lived nuclear proteins. *PNAS*. Vol. 91. P. 326–330.
4. Abel S., Nguyen M.D., Chow W. et al., 1995. ACS4, a primary indoleacetic acid-responsive gene encoding 1-ami-

- nocyclopropane-1-carboxylate synthase in *Arabidopsis thaliana*. J. Biol. Chem. Vol. 270. P. 19093–19099.
5. Abel S., Theologis A. 1995. A polymorphic bipartite motif signals nuclear targeting of early auxin-inducible proteins related to PS-IAA4 from pea (*Pisum sativum*). Plant J. Vol. 8. P. 87–96.
 6. Abel S., Theologis A. 1996. Early genes and auxin action. Plant Physiology. Vol. 111. P. 9–17.
 7. Bari R., Jones J. D. G. 2009. Role of plant hormones in plant defence responses. Plant Mol Biol. Vol. 69. P. 473–488.
 8. Bierfreund N. M., Tintelnot S., Reski R., Decker E. L. 2004. Loss of GH3 function does not affect phytochrome-mediated development in a moss, *Physcomitrella patens*. J. Plant Physiol. Vol. 161. P. 823–835.
 9. Chehab E. W., Eich E., Braam J. 2009. Thigmomorphogenesis: a complex plant response to mechanostimulation. J. Exp. Botany. Vol. 60. P. 43–56.
 10. Dargeviciute A., Roux C., Decreux A. et al., 1998. Molecular cloning and expression of the early auxin-responsive Aux/IAA gene family in *Nicotiana tabacum*. Plant Cell Physiol. Vol. 39. P. 993–1002.
 11. Dharmasiri N., Estelle M. 2004. Auxin signaling and protein degradation. Trends Plant Sci. Vol. 9. P. 302–308.
 12. Dharmasiri N., Dharmasiri S., Weijers D. et al., 2005. Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins. Dev. Cell. Vol. 9. P. 109–119.
 13. Esmon C. A., Tinsley A. G., Ljung K. et al., 2006. A gradient of auxin and auxin-dependent transcription precedes tropic growth responses. PNAS. Vol. 103. P. 236–241.
 14. Gil P., Liu Y., Orbovic V. et al., 1994. Characterization of the auxin-inducible SAUR-AC1 gene for use as a molecular genetic tool in *Arabidopsis*. Plant Physiology. Vol. 104. P. 777–784.
 15. Goda H., Sasaki E., Akiyama K. et al., 2008. The At-GenExpress hormone and chemical treatment data set: experimental design, data evaluation, model data analysis and data access. Plant J. Vol. 55. P. 526–542.
 16. Goda H., Shimada Y., Asami T. et al., 2002. Microarray analysis of brassinosteroid-regulated genes in *Arabidopsis*. Plant Physiol. P. 130. P. 1319–1334.
 17. Guilfoyle T. J. 1999. Auxin-regulated genes and promoters. Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones / Eds. P. J. J. Hooykaas, M. A. Hall, K. R. Libbenga. Elsevier, Amsterdam. P. 423–459.
 18. Guilfoyle T. J., McClure B. A., Gee M. A., Hagen G. 1993. Auxin-regulated transcription. Aust. J. Plant Physiol. Vol. 20. P. 489–502.
 19. Hagen G., Guilfoyle T. J. 1985. Rapid induction of selective trans. by auxins. Mol. Cell. Biol. Vol. 5. P. 1197–1203.
 20. Hagen G., Guilfoyle T. 2002. Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors. Plant Mol. Biol. Vol. 49. P. 373–85.
 21. Hagen G., Kleinschmidt A., Guilfoyle T. 1984. Auxin-regulated gene expression in intact soybean hypocotyl and excised hypocotyl sections. Planta. Vol. 162. P. 147–153.
 22. Hagen G., Martin G., Li Y., Guilfoyle T. J. 1991. Auxin-induced expression of the soybean GH3 promoter in transgenic tobacco plants. Plant Mol. Biol. Vol. 17. P. 567–579.
 23. Hao G.-F., Yang G.-F. 2010. The role of Phe82 and Phe351 in auxin-induced substrate perception by TIR1 ubiquitin ligase: A novel insight from molecular dynamics simulations. PLoS ONE 5 (5): e10742. doi:10.1371/journal.pone.0010742.
 24. Ku S. J., Park J. Y., Ha S. B., Kim J. 2009. Overexpression of IAA1 with domain II mutation impairs cell elongation and cell division in inflorescences and leaves of *Arabidopsis*. J. Plant Physiol. Vol. 166. P. 548–553.
 25. Lee D. J., Park J. W., Lee H. W. and Kim J. 2009. Genome-wide analysis of the auxin-responsive transcriptome downstream of *iaa1* and its expression analysis reveal the diversity and complexity of auxin-regulated gene expression. J. Ex. Botany. Vol. 60. P. 3935–3957.
 26. Liscum E., and Reed, J. W. 2001. Genetics of Aux/IAA and ARF action in plant growth and development. Plant Mol. Biol. Vol. 49. P. 387–400.
 27. McClure B. A., Guilfoyle T. J. 1987. Characterization of a class of small auxin-inducible soybean polyadenylated RNAs. Plant Mol. Biol. Vol. 9. P. 611–623.
 28. McClure B. A., Guilfoyle T. 1989. Rapid redistribution of auxin-regulated RNAs during gravitropism. Science. Vol. 243. P. 91–93.
 29. McClure B. A., Hagen G., Brown C. S. et al., 1989. Transcription, organization, and sequence of an auxin-regulated cluster in soybean. Plant Cell. Vol. 1. P. 229–239.
 30. Mockaitis K., Estelle M. 2008. Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm. Annu Rev Cell Dev Biol. Vol. 24. P. 55–80.
 31. Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant. Vol. 15. P. 473–497
 32. Muto H., Watahiki M. K., Nakamoto D. et al., 2007. Specificity and similarity of functions of the Aux/IAA genes in auxin signaling of *Arabidopsis* revealed by promoter-exchange experiments among MSG2/IAA19, AXR2/IAA7, and SLR/IAA14. Plant Physiology. Vol. 144. P. 187–196.
 33. Nebenführ A., White T. J., Lomax T. L. 2000. The diageotropica mutation alters auxin induction of a subset of the Aux/IAA gene family in tomato. Plant Mol Biol. Vol. 44. P. 73–84.
 34. Oeller P. W., Keller J. A., Parks J. E. et al., 1993. Structural characterization of the early indoleacetic acid-inducible genes, PS-IAA4/5 and PS-IAA6, of pea (*Pisum sativum* L.). J Mol Biol. 1993. Vol. 233. P. 789–798.
 35. Ouellet F., Overvoorde P. J., Theologis A. 2001. IAA17/AXR3: biochemical insight into an auxin mutant phenotype. Plant Cell. Vol. 13. P. 829–841.
 36. Patel D., Franklin K. A. 2009. Temperature-regulation of plant architecture. Plant Signaling & Behavior. Vol. 4. P. 577–579.

37. Park J. Y., Kim H. J., Kim J. 2002. Mutation in domain II of IAA1 confers diverse auxin-related phenotypes and represses auxin-activated expression of Aux/IAA genes in steroid regulator-inducible system. *Plant Journal*. Vol. 32. P. 669–683.
38. Paponov I. A., Paponova M., Tealea W. et al., 2008. Comprehensive Transcriptome Analysis of Auxin Responses in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*. Vol. 1. P. 321–337.
39. Pufky J., Qiu Y., Rao M. V. et al., 2003. The auxin-induced transcriptome for etiolated *Arabidopsis* seedlings using a structure/function approach. *Functional Integrative Genomics* Vol. 3. P. 135–143.
40. Redman J. C., Haas B. J., Tanimoto G., Town C. D. 2004. Development and evaluation of an *Arabidopsis* whole genome Affymetrix probe array. *Plant Journal*. Vol. 38. P. 545–561.
41. Roux C., Perrot-Rechenmann C. 1997. Isolation by differential display and characterization of a tobacco auxin-responsive cDNA *Nt-gh3*, related to GH3. *FEBS Letters*. Vol. 419. P. 131–136.
42. Scherer G., Zahn M., Callis J., Jones A. 2007. A role for phospholipase A in auxin-regulated gene expression. *FEBS Letters*. Vol. 581. P. 4205–4211.
43. Staswick P. E., Tiryaki I., Rowe M. 2002. Jasmonate response locus JAR1 and several related *Arabidopsis* genes encode enzymes of the firefly luciferase superfamily that show activity on jasmonic, salicylic, and indole-3-acetic acids in an assay for adenylation. *Plant Cell*. Vol. 14. P. 1405–1415.
44. Staswick P. E., Serban B., Rowe M. et al., 2005. Characterization of an *Arabidopsis* enzyme family that conjugates amino acids to indole-3-acetic acid. *Plant Cell*. Vol. 17. P. 616–627.
45. Takase T., Nakazawa M., Ishikawa A. et al., 2004. *ydk1-D*, an auxin-responsive GH3 mutant that is involved in hypocotyl and root elongation. *Plant Journal*. Vol. 37. P. 471–483.
46. Tatematsu K., Kumagai S., Muto H. et al., 2004. MASSUGU2 encodes Aux/IAA19, an auxin-regulated protein that functions together with the transcriptional activator NPH4/ARF7 to regulate differential growth responses of hypocotyl and formation of lateral roots in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*. Vol. 19. P. 379–393.
47. Theologis A., Huynh T. V., Davis R. W. 1985. Rapid induction of specific mRNAs by auxin in pea epicotyl tissue. *J. Mol. Biol.* Vol. 183. P. 53–68.
48. Tian Q., Reed J. W. 1999. Control of auxin-regulated root development by the *Arabidopsis thaliana* SHY2/IAA3 gene. *Development*. Vol. 126. P. 711–721.
49. Tian Q., Uhlir N. J., Reed J. W. 2002. *Arabidopsis* SHY2/IAA3 inhibits auxin-regulated gene expression. *Plant Cell*. Vol. 14. P. 301–319.
50. Ulmasov T., Hagen G., Guilfoyle T. J. 1997. ARF1, a transcription factor that binds to auxin response elements. *Science*. Vol. 276. P. 1865–1868.
51. Ulmasov T., Murfett J., Hagen G., Guilfoyle T. J. 1997. Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell*. Vol. 9. P. 1963–1971.
52. Walker J. C., Key J. L. 1982. Isolation of cloned cDNAs to auxin-responsive poly (A+) RNAs of elongating soybean hypocotyl. *PNAS*. Vol. 79. P. 7185–7189.
53. Wright R. M., Hagen G., Guilfoyle T. J. 1987. An auxin-induced polypeptide in dicotyledonous plants. *Plant Mol. Biol.* Vol. 9. P. 625–634.
54. Yang T., Poovaiah B. W. 2000. Molecular and biochemical evidence for the involvement of calcium/calmodulin in auxin action. *J. Biol. Chem.* Vol. 275. P. 3137–3143.
55. Yang X., Lee S., So J. H. et al., 2004. The IAA1 protein is encoded by AXR5 and is a substrate of SCF^{TIR1}. *Plant Journal*. Vol. 40. P. 772–782.
56. Zhang Z., Wang M., Li Z., Li Q., He Z. 2008. *Arabidopsis* GH3.5 regulates salicylic acid-dependent and both NPR1-dependent and independent defense responses. *Plant Signaling and Behavior*. Vol. 3. P. 537–542.

✪ Информация об авторах

Шишова Мария Федоровна — д. б. н., профессор, биологический факультет, кафедра физиологии и биохимии растений. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: mshishova@mail.ru.

Пахлер Мартин — исследователь, факультет естественных наук, отделение технической химии. Университет им. Лейбница. D-30167, Каллин штрассе, д. 3, Ганновер, Германия. E-mail: paehler@iftc.uni-hannover.de.

Шталь Франк — профессор, факультет естественных наук, отделение технической химии. Университет им. Лейбница. D-30167, Каллин штрассе, д. 3, Ганновер, Германия. E-mail: Stahl@iftc.uni-hannover.de.

Шерер Гюнтер — профессор, факультет естественных наук, отделение декоративного растениеводства, кафедра молекулярной физиологии растений. Университет им. Лейбница. D-30419, Херренхойзер штрассе, д. 2, строение 4116, Ганновер, Германия. E-mail: scherer@zier.uni-hannover.de.

Shishova Mariya Fedorovna — Professor, Faculty of Biology, Department of Plant Physiology and Biochemistry. Saint Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: mshishova@mail.ru.

Pahler Martin — Scientific Researcher, Fakultät fuer Naturwissenschaften, Institut fuer Technische Chemie. Leibniz Universität Hannover. D-30167, Hannover, Callinstrasse, 3. Deutschland. E-mail: paehler@iftc.uni-hannover.de.

Stahl Frank — Professor, Fakultät fuer Naturwissenschaften, Institut fuer Technische Chemie. Leibniz Universität Hannover. D-30167, Hannover, Callinstrasse, 3. Deutschland. E-mail: Stahl@iftc.uni-hannover.de.

Scherer Guenther — Professor, Fakultät fuer Naturwissenschaften, Institut fuer Zierpflanzen- und Gehoelzwissenschaften, Abteilung Molekulare Ertragsphysiologie. Leibniz Universität Hannover. D-30419, Hannover, Herrenhaeuser Strasse, 2, Gebaeude 4116. Deutschland. E-mail: scherer@zier.uni-hannover.de.