

© В. Е. Творогова,
М. А. Осипова, И. Е. Додуева,
Л. А. Лутова

Санкт-Петербургский
государственный университет

✿ **Рост и развитие растения регулируются за счёт контроля активности особых групп клеток — апикальных меристем. Этот контроль осуществляется посредством фитогормонов, а также транскрипционных факторов — регуляторов экспрессии генов. В обзоре кратко описаны основные транскрипционные факторы, регулирующие работу апикальных меристем растений, и собраны полученные на сегодня данные о взаимодействии этих факторов с важнейшими гормонами растений — ауксинами, цитокининами и гиббереллинами, а также описаны общие тенденции этих взаимодействий.**

✿ **Ключевые слова:** меристемы; ауксины; цитокинины; гиббереллины; KNOX; WOX.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ И ФИТОГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ МЕРИСТЕМ У РАСТЕНИЙ

ВВЕДЕНИЕ

Выявление механизмов регуляции активности меристем является одной из важнейших задач современной биологии растений. Благодаря наличию меристем, особых зон пролиферации клеток, у растений возможно формирование новых органов и тканей на протяжении всего постэмбрионального периода. У эволюционно древних групп высших растений — мхов, папоротников, хвощей и многих плаунообразных, — рост растений осуществляется за счет активности верхушечных клеток, так называемых точек роста, одна из которых расположена на верхушке побега, а другая — на кончике корня (Синнот, 1963). У папоротников и семенных растений точки роста, представленные апикальными меристемами, в целом имеют более сложную организацию и представлены большим числом клеток. Апикальные меристемы корня и побега, несмотря на характерные для них различия, имеют общие черты организации. Для того чтобы апикальные меристемы могли обеспечивать постоянство развития, они должны обладать особыми свойствами: с одной стороны, часть клеток меристемы должна постоянно поддерживать недифференцированное состояние и способность к пролиферации, а с другой стороны, меристема должна продуцировать клетки, способные к дифференцировке и формированию новых органов.

В меристеме выделяют особые популяции клеток, которые и определяют эти свойства. К ним относят так называемые стволовые клетки (Sablowski, 2007), прилегающие к организующему центру (ОЦ) меристемы (рис. 1).

Предполагается, что клетки ОЦ управляют активностью меристемы: подавляют дифференцировку прилежащих стволовых клеток и стимулируют пролиферацию клеток меристемы (Perales, Reddy, 2012, Sablowski, 2007). Общей особенностью клеток ОЦ является то, что они делятся относительно медленно по сравнению с другими клетками меристемы.

В побеговой апикальной меристеме (ПАМ) стволовые клетки и расположенный в более глубоких слоях клеток ОЦ находятся в центральной зоне. Её окружают периферическая и подстилающая зоны, представленные потомками клеток центральной зоны. В них скорость деления клеток выше, чем в центральной зоне; клетки периферической зоны дают начало латеральным органам побега — зачаткам листьев, клетки подстилающей зоны — тканям стебля (Perales, Reddy, 2012). В корневой апикальной меристеме (КАМ) ОЦ (который получил название покоящегося центра) окружён стволовыми клетками, так называемыми клетками-инициалами. Они дают начало дистальным (колумелла), латеральным (латеральная часть корневого чехлика и эпидерма) и проксимальным (кора, эндодерма и стела) тканям корня (Sarkar et al., 2007, Stahl, Simon, 2010).

Изучение регуляции активности меристем, определяющих рост и развитие растений, было предметом активных исследований на протяжении многих десятков лет. Ростовые вещества, способные влиять на процессы роста и развития растений, стали предметом активного изучения еще с 30-х годов XX века. Были открыты основные классы фитогормонов — эндогенных регуляторов развития и жизнедеятельности растений.

Среди фитогормонов в развитии меристем наиболее важную роль играют цитокинины, ауксины и гиббереллины. Цитокинины представляют собой различные производные аминокислот, ауксины — производные индола, гиббереллины являются дитерпеноидами. Цитокинины синтезируются преимущественно в корне, откуда по большей части переносятся в ПАМ.

Поступила в редакцию 07.08.2012
Принята к публикации 03.09.2012

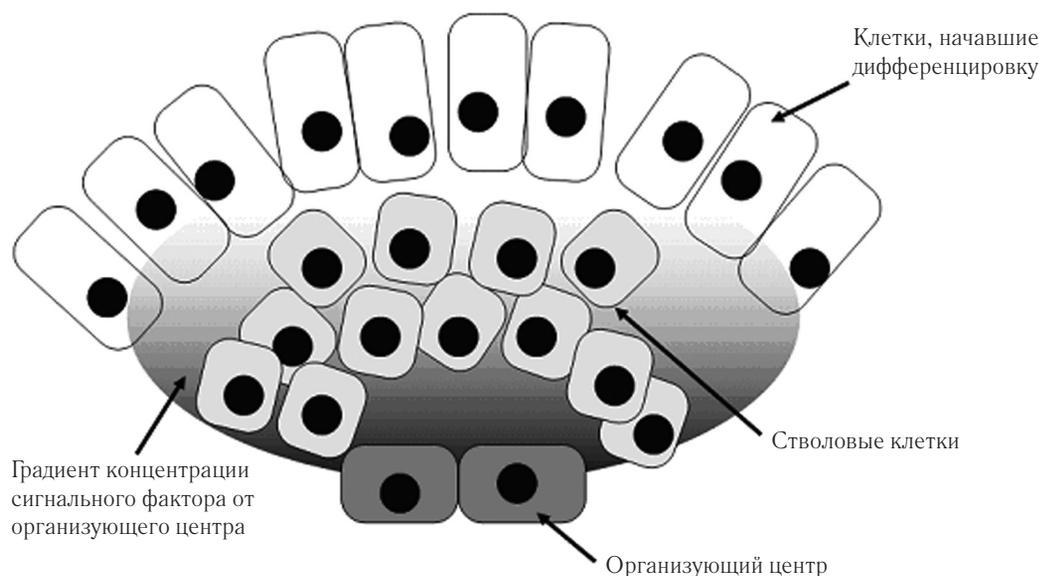


Рис. 1. Общая схема организации меристем (модифицировано по Sablowski, 2007)

Их синтез катализируется ферментами ISOPENTENYL TRANSFERASE (IPT) и LONELY GUY (LOG). (Kamada-Nobusada et al., 2009, Kurakawa et al., 2007). Рецепторы цитокининов — сенсорные гистидин-киназы ARABIDOPSIS HISTIDIN KINASE (АНК) — локализованы на плазмалемме, передача сигнала организована по принципу каскада фосфорилирования, в котором принимают участие переносчики фосфатных групп ARABIDOPSIS HISTIDINE-CONTAINING PHOSPHOTRANSFER FACTOR (АНФ), цитокинин-регулируемые ТФ ARR-B (Type B ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR) и ингибиторы передачи сигнала ARR-A (To, Kieber, 2008).

Ауксины синтезируются в молодых листьях. Их синтез контролируется множеством различных генов, организованных в семейства. Большая часть ауксина транспортируется из синтезирующих его тканей через флоэму; этот вид транспорта не регулируется. Также существует более медленный, регулируемый транспорт через клетки, опосредованный мембранными белковыми переносчиками: AUXIN TRANSPORTER PROTEIN 1 (AUX1) и PIN-FORMED (PIN). Регуляция транспорта ауксина, которая осуществляется за счёт модуляции экспрессии генов PIN или активности кодируемых ими белков, крайне важна в развитии растения.

Рецептор ауксина — цитоплазматический белок TIR1 (TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1) — является компонентом убиквитин-лигазного комплекса. В дальнейшей передаче сигнала принимают участие транскрипционные факторы группы AUXIN RESPONSE FACTORS (ARF), а также ингибиторы ауксинового сигналинга — белки AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID (Aux/IAA). Ауксин делает возможным взаимодействие TIR1 с белками Aux/IAA, тем самым приводя к их деградации в протеасоме (Tan et al., 2007). Существует также мембранный

рецептор ауксина — белок ABP1 (AUXIN-BINDING PROTEIN 1). О механизмах его действия на сегодняшний день известно очень мало (Sauer et al., 2011).

В метаболизме гиббереллинов наиболее важную роль играют оксидазы гиббереллиновой кислоты 20 и 3, GA20ox (Gibberellic Acid-20 oxidase) и GA3ox, синтезирующие активные формы гиббереллинов, а также GA2ox, инактивирующая гиббереллины (Hedden, Thomas, 2012). Гиббереллиновый сигналинг осуществляется за счёт убиквитин-зависимой деградации репрессоров гиббереллинового ответа — ТФ DELLA посредством их связывания с рецептором гиббереллинов GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 (GID1), компонентом убиквитин-лигазного комплекса (Gao et al., 2011).

Ауксины стимулируют развитие корней, цитокинины — развитие побегов (Skoog, Miller, 1957). При этом в ПАМ цитокинины стимулируют пролиферацию клеток, в частности за счёт активации экспрессии гена, кодирующего циклин D3 (Riou-Khamlichi et al., 1999). Ауксины и гиббереллины в ПАМ стимулируют дифференцировку клеток и развитие латеральных органов. В КАМ, напротив, ауксины необходимы для поддержания ниши ствольных клеток, а цитокинины стимулируют дифференцировку. Гиббереллины способствуют увеличению размеров КАМ, стимулируя деление клеток в эндодерме (Galinha et al., 2009).

Таким образом, одни и те же фитогормоны действуют неодинаково в побеге и корне. Это заставляет предположить, что наряду с фитогормонами развитие растений регулируют и другие факторы, при этом набор этих факторов специфичен для разных органов растения. Действительно, к настоящему времени у растений охарактеризованы гены, кодирующие транскрипционные факторы (ТФ) — регуляторы работы других генов — многие из которых играют важную роль в регуляции

пролиферации и дифференцировки растительных клеток. Мутанты по генам, кодирующим такие ТФ, характеризуются различными аномалиями развития растений, в том числе обусловленными нарушением работы меристем.

ТФ, контролирующие активность меристем, относятся к разным белковым семействам. Среди них есть ТФ, встречающиеся у других групп эукариот, как, например, ТФ с гомеодоменом (семейства KNOX (KNOTTED-LIKE HOMEBOX), WOX (WUSCHEL-LIKE HOMEBOX)). Есть и уникальные для растений группы ТФ — например, ТФ из семейств GRAS (SHORTROOT, SCARECROW) и APETALA2 (PLETHORA).

Каким же образом ТФ и фитогормоны координируют свои действия в регуляции развития меристем? Какова иерархия ТФ и фитогормонов в регуляции развития меристем и существует ли она? В настоящем обзоре мы попытаемся найти ответы на эти вопросы на основании известных данных о влиянии друг на друга основных меристематических ТФ и важнейших фитогормонов в контроле развития и активности меристем.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТФ С ФИТОГОРМОНАМИ В ПАМ

К числу основных регуляторов ПАМ относятся ТФ с гомеодоменом, принадлежащие к семействам KNOX и WOX. Мутанты по генам, кодирующим такие ТФ, характеризуются недоразвитием ПАМ, что указывает на необходимость этих ТФ для стимулирования пролиферации и подавления дифференцировки клеток меристемы.

Ниша стволовых клеток в ПАМ поддерживается с помощью системы отрицательной обратной связи между стволовыми клетками и ОЦ. Клетки ОЦ синтезируют ТФ WUSCHEL (WUS), подавляющий дифференцировку стволовых клеток (van der Graaff et al., 2009). Он принадлежит к семейству WOX, к которому также относится один из ключевых регуляторов КАМ — ТФ WUSCHEL-LIKE HOMEBOX 5 (он будет более подробно рассмотрен в следующем разделе).

Белок WUS, мигрируя в стволовые клетки, индуцирует синтез секретируемого сигнального пептида CLAVATA3 (CLV3) (Yadav, Reddy, 2012). CLV3 принадлежит к группе CLE-пептидов (CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION), которые выделяют в особый класс пептидных гормонов. CLV3 подавляет экспрессию гена WUS, связываясь с собственными мембранными рецепторами CLV1 и 2 (CLAVATA1 и 2), и CRN (CORYNE), и таким образом ограничивает область активности ТФ WUS в ПАМ (Müller et al., 2008).

Помимо формирования и поддержания активности ПАМ в ходе нормального развития растения, WUS необходим также для регенерации побегов и соматического эмбриогенеза, в ходе которых он также определяет возникновение и развитие ПАМ (Chen et al., 2009, Atta et al., 2009).

Важную роль в поддержании ПАМ играют гены семейства KNOX (Hamant, Pautot., 2010). Гены KNOX обнаружены у всех исследованных видов однодольных и двудольных растений, и их основной функцией является регуляция меристематической активности клеток в растении. Семейство KNOX делится на два класса генов. Для генов первого класса (KNOX-I), включающего гены STM (SHOOTMERISTEMLESS), KNAT1 (KNotted in Arabidopsis Thaliana), или BP (BREVIPEDICELLUS), KNAT2 и KNAT6, показано участие в развитии ПАМ.

Ген STM — один из наиболее важных генов KNOX первого класса. В ходе вегетативного развития STM экспрессируется в центральной и периферической зонах ПАМ (Scofield et al., 2006). Ген KNAT1 имеет большой процент сходства с STM, и сейчас установлено, что эта пара образовалась в результате геной дупликации (Scofield, Murray, 2006). В ПАМ ТФ группы KNOX-I являются антагонистами факторов, запускающих дифференцировку клеток и развитие листовых примордиев (в частности, ТФ ASYMMETRIC LEAVES 1 и 2).

В ПАМ гормоны растений распределены неравномерно. Так, наиболее высокая концентрация цитокининов наблюдается в центральной зоне, где они стимулируют пролиферацию клеток и подавляют их дифференцировку. Ауксины и гиббереллины, напротив, стимулируют дифференцировку клеток в периферической зоне ПАМ, где происходит закладка листовых примордиев.

В настоящее время накоплено множество данных о взаимодействии ТФ KNOX-I и WOX с этими гормонами в контроле развития ПАМ.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТФ WUS И АУКСИНОВ

Поскольку ТФ WUS в целом подавляет дифференцировку клеток в ПАМ, можно предположить, что он подавляет работу ауксинов. Немногочисленные исследования, связанные с этой проблемой, подтверждают это предположение. Например, подавление экспрессии гена WUS (с помощью сверхэкспрессии гена CLV3 или с помощью РНК-интерференции самого WUS) вызывает в периферической зоне ПАМ увеличение доли клеток с активным ауксин-чувствительным промотором (в данной работе использовали синтетический ауксин-чувствительный промотор DR5). Таким образом, ТФ WUS, вероятно, снижает число ауксин-чувствительных клеток в периферической зоне или же уменьшает количество ауксина в этой зоне, что приводит к ограничению числа дифференцирующихся клеток (Yadav et al., 2010). Также WUS напрямую влияет на экспрессию генов, отвечающих за действие ауксинов: он стимулирует экспрессию гена TOPLESS, ингибитора ауксинового сигналинга (Busch et al., 2010).

В промоторе гена WUS арабидопсиса и двух его ортологов у *Populus trichocarpa* (*PopWUS1* и *PopWUS2*) найдены различные ауксин-чувствительные элемен-

ты: AuhRE, NTBBF1ARROLB и SURECOREATSULT R11 (Bao et al., 2009), однако данные о влиянии самих ауксинов на работу WUS неоднозначны. В основном они получены в ходе исследований регенерации растений.

У корневых эксплантов арабидопсиса при сверхэкспрессии гена *ARF10* увеличивается число регенерирующих побегов и повышается уровень экспрессии ряда меристем-специфичных генов, среди которых есть и ген *WUS* (Qiao et al., 2012). Исходя из этого, можно предположить, что ауксины положительно влияют на экспрессию *WUS*.

В каллусах люцерны, однако, экзогенный ауксин не влияет на содержание РНК гена *WUS* (Chen et al., 2009).

В других исследованиях, посвящённых регенерации растений, наблюдали отрицательный эффект ауксинов на экспрессию *WUS*. В частности, образование побегов на каллусе у арабидопсиса требует предварительной обработки ауксином и последующего уменьшения его концентрации в среде, что сопровождается появлением сайтов экспрессии *WUS* (Atta et al., 2009).

На каллусах арабидопсиса было также показано, что предварительная культивация первичных соматических эмбрионов в среде с определённой концентрацией ауксина необходима для последующей экспрессии гена *WUS* и соматического эмбриогенеза, однако эти события наблюдаются лишь после удаления экзогенного ауксина из среды. На среде без добавления ауксина экспрессия гена *WUS* в эмбрионных каллусах наблюдалась после установления градиента концентрации ауксина непосредственно в тканях каллуса. При этом *WUS* экспрессировался в зонах с низкой концентрацией ауксина и в зонах, окружающих максимумы концентрации ауксина (Su et al., 2009).

Кроме того, на арабидопсисе показано, что при искусственной стимуляции работы гена *WUS* в корнях в сайтах его экспрессии наблюдается формирование эктопических побегов. Добавление в среду для культивации ауксина меняет характер работы этого ТФ: вместо эктопических побегов на корнях формируются соматические эмбрионы (Gallois et al., 2004).

Таким образом, влияние ауксинов на работу и экспрессию *WUS* не однозначно, однако можно утверждать, что, во-первых, ауксины воздействуют на экспрессию гена *WUS* (возможно, опосредованно, через изменение экспрессии других генов) и, во-вторых, ауксины взаимодействуют с сигнальными путями этого ТФ — например, за счёт влияния на те же гены-мишени. Так, недавно было показано, что в промоторе гена *Helianthus annuus LEAFY COTYLEDON1-LIKE (HaLIL)*, участвующего в соматическом и зиготическом эмбриогенезе, есть последовательности, с которыми связывается ТФ *WUS*, а также ауксин-регулируемые последовательности (Salvini et al., 2012).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ WUS И ЦИТОКИНИНОВ

Взаимодействие цитокининов и ТФ *WUS* изучено более подробно. Результаты исследований регенерации побегов из каллусов арабидопсиса (Atta et al., 2009) и соматического эмбриогенеза у люцерны (Chen et al., 2009) говорят о том, что цитокинины повышают уровень экспрессии гена *WUS* в каллусах (как было сказано выше, *WUS* необходим для этих процессов). Аналогичный эффект наблюдали в побегах арабидопсиса с помощью гибридизации *in situ* (Buechel et al., 2010), а также в бескорневых эксплантах *Raphanus sativus* (Лутова и др., 2008).

Было показано на арабидопсисе, что цитокинины подавляют экспрессию гена *CLV1*, участвующего в репрессии *WUS* (Lindsay et al., 2006). Однако у мутантов с потерей функции генов *CLV1* или *CLV3* обработка цитокинином также повышает уровень экспрессии *WUS*. Таким образом, существует и независимый от системы *CLAVATA* путь активации экспрессии гена *WUS* цитокининами.

Цитокинины активируют экспрессию гена *WUS* и в случае предварительной обработки растений циклогексимидом (ингибитором синтеза белка), а в промоторе гена *WUS* арабидопсиса и двух его ортологов у *P. trichocarpa (PopWUS1 и PopWUS2)* найдены цитокинин-чувствительные элементы *ARR1AT* и *CPBCSPOR* (Bao et al., 2009).

Для *CLV*-независимой индукции экспрессии гена *WUS* цитокинином необходимы цитокининовые рецепторы *АНК2* и *АНК4*, но не *АНК3*. В домене экспрессии *WUS* наблюдается повышенный уровень экспрессии *АНК4*, что, видимо, обеспечивает уровень интенсивности цитокининового ответа, достаточный для индукции работы *WUS* (Gordon et al., 2009).

Один из генов биосинтеза цитокининов, *LOG4*, экспрессируется в слое L1 в ПАМ. Предполагают, что возникающий за счёт *LOG4* градиент цитокининов от L1 к внутренним слоям, а также градиент ингибитора *WUS CLV3* от центральной зоны к подстилающей зоне, вместе обеспечивают экспрессию *WUS* в строго определённом районе ПАМ (Chickarmane et al., 2012).

С другой стороны, у арабидопсиса ТФ *WUS* напрямую подавляет экспрессию гена *ARR7*, ингибитора цитокининового ответа. Выявлено негативное влияние *WUS* и на экспрессию других генов из группы *ARR A* (Leibfried et al., 2005).

Таким образом, экспериментальные данные, полученные на сегодня, предполагают наличие в ПАМ петли положительной обратной связи между цитокининами и ТФ *WUS*.

ТФ KNOX-I И ЦИТОКИНИНЫ

Гены *KNOX* первого класса и цитокинины действуют однонаправленно: фенотип растений со сверхэкспрессией этих генов сходен с фенотипом растений с повышенным содержанием цитокининов (Sinha et al., 1993).

В то же время работа генов *KNOX-I* приводит к увеличению содержания цитокининов. В частности, сверхэкспрессия гена класса *KNOX-I* у картофеля (*POTATO HOMEBOX 1*) в несколько раз увеличивает содержание цитокининов в кончиках побегов (Chen et al., 2003).

Листовые экспланты табака со сверхэкспрессией гена *MdKN1* (*Malus domestica KNOTTED1*) яблони способны к регенерации побегов на безгормональной среде — это говорит о повышенном содержании эндогенных цитокининов у таких растений (Srinivasan et al., 2011).

Каким же образом гены *KNOX-I* увеличивают содержание цитокининов?

Было показано, что активация ТФ *STM* арабидопсиса увеличивает уровень экспрессии генов изопентенилтрансфераз *IPT5* и *IPT7*, участников биосинтеза цитокининов (Jasinski et al., 2005).

Также показано, что активация других ТФ группы *KNOX-I* — *KNAT1* и *KNAT2* — ведёт к увеличению уровня экспрессии гена *IPT7*. Предполагают, что ген *IPT7* является основной мишенью факторов *KNOX-I* в регуляции уровня цитокининов (Yanai et al., 2005).

Сверхэкспрессия гена *Brassica napus BnSTM* в корневых эксплантах арабидопсиса стимулирует регенерацию побегов, а также повышает уровень экспрессии генов рецепторов цитокининов: *CK1I* (*CYTOKININ INSENSITIVE1*) и *AHK4*. Также в эксплантах арабидопсиса экспрессия *BnSTM* активирует работу генов *ARR B*-типа, участников цитокининового ответа, и ингибирует экспрессию ряда генов *ARR A*-типа — ингибиторов цитокининового ответа (Elhiti, Stasola, 2012).

Таким образом, ТФ *KNOX-I* положительно влияют как на биосинтез, так и на сигналинг цитокининов.

Данные о влиянии цитокининов на работу *KNOX-I* более противоречивы.

В трансгенных растениях арабидопсиса со сверхэкспрессией гена цитокинин-оксидазы (этот фермент инактивирует цитокинины) орхидеи *Dendrobium sonia CYTOKININ OXIDASE/DEHYDROGENASE 1*, уровни экспрессии генов *KNAT1* и *STM* снижены (Yang et al., 2003).

В проростках арабидопсиса, экспрессирующих ген синтеза цитокининов *ipt* из *Agrobacterium tumefaciens* в течение двух недель, была повышена экспрессия генов *STM* и *KNAT1* в стебле и молодых листьях (Rupp et al., 1999). Однако, согласно данным другой работы, экспрессия *ipt* в течение 48 часов не изменяла уровни РНК генов *STM* и *KNAT1*, хотя в проростках наблюдали усиление экспрессии гена *ARR5* — маркера цитокининового ответа (Craft et al., 2005). Было выдвинуто предположение о том, что двухнедельная стимуляция растений эндогенным цитокинином в эксперименте Rupp et al. может привести к морфологическим изменениям, например, к увеличению количества придаточных меристем. Поэтому наблюдаемая в данном эксперименте активация транскрипции *KNAT1* и *STM*

может быть обусловлена не увеличением числа транскриптов этих генов на клетку, а увеличением относительного количества меристематических клеток в пробе (Craft et al., 2005).

Тем не менее, были получены данные, говорящие о небольшой, но значимой индукции генов *STM*, *KNAT1*, *KNAT2* и *KNAT6* в апексах проростков арабидопсиса при повышении уровня эндогенных цитокининов в течение короткого периода времени. В других частях проростков индукции выявлено не было. В гипокотылях экспрессия гена *STM*, напротив, подавлялась при кратковременном увеличении уровня цитокининов (Soucek et al., 2007).

Ген *BroSTM*, гомолог гена *STM* у *B. oleracea*, также индуцируется в ответ на кратковременную (4 часа) обработку цитокинином в стеблевых эксплантах. Его экспрессия ассоциирована с регенерацией побегов из эксплантов (Teo et al., 2001).

Экспрессия гена *GmKNT1 Glycine max*, близкого гомолога *STM*, подавляется цитокининами (Liu et al., 2008).

Данные, полученные при широкомасштабном анализе генов, чувствительных к цитокинину, не показали повышения уровня экспрессии *STM* в ответ на индукцию биосинтеза цитокининов, однако наблюдалось временная активация гена *KNAT1* (после 6 часов индукции биосинтеза цитокининов), которая в дальнейшем исчезала (Hoth et al., 2003). Таким образом, можно предположить, что регуляция экспрессии генов *KNOX-I* цитокининами имеет определённую временную специфику (Soucek et al., 2007).

KNOX-I И ГИББЕРЕЛЛИНЫ

Эти факторы выполняют противоположные функции в ПАМ, и влияние генов *KNOX-I* на работу гиббереллинов изучено достаточно подробно.

Было показано, что сверхэкспрессия гена класса *KNOX-I Oryza sativa HOMEBOX 1 (OSHI)* в трансгенных растениях табака приводит к морфологическим изменениям, ассоциированным со снижением уровней активных форм гиббереллинов (Kusaba et al., 1998a). При этом обработка растений активными гиббереллинами приводит к частичному восстановлению нормального фенотипа. Исходя из этого, можно было предположить, что гены *KNOX-I* действуют не на передачу сигнала этих гормонов, а на их метаболизм. И действительно, как оказалось, сверхэкспрессия *OSHI* приводит к снижению уровня экспрессии гена оксидазы гиббереллиновой кислоты-20 (*GA20ox*), одного из основных ферментов биосинтеза гиббереллинов (Kusaba et al., 1998b).

NTH15, ген *KNOX-I* у табака, напрямую ингибирует экспрессию гена биосинтеза гиббереллинов *NTC12* (он тоже кодирует *GA20ox*), связываясь с небольшим участком в первом интроне этого гена (Sakamoto et al., 2001). Сходные результаты были получены и для ТФ класса *KNOX-I* у картофеля (Chen et al., 2004).

Кроме того, было показано, что активация ТФ STM у арабидопсиса приводит к увеличению уровней экспрессии генов *GA2ox2* и *GA2ox4*. Однодольные также обладают системой взаимной регуляции ТФ KNOX-I и гиббереллинов. На кукурузе (*Zea mays*) была показана прямая активация гена *GA2ox1* геном *KNOTTED1*, относящимся к группе *KNOX-I*. Этот фактор связывается с цис-регулирующим элементом в интроне гена *GA2ox1*. Домены экспрессии генов *KN1* и *GA2ox1* перекрываются в основании ПАМ, а также на границах с основаниями формирующихся листьев. Таким образом, вероятно, *KN1* поддерживает границу между дифференцированными и недифференцированными клетками (Bolduc, Nake, 2009).

Таким образом, низкий уровень гиббереллинов в ПАМ поддерживается не только за счёт подавления их синтеза, но и за счёт инактивации гиббереллинов, которые могут поступать из других частей растения.

Влияние гиббереллинов на гены *KNOX-I* изучено в меньшей степени. Показано, что обработка гиббереллинами эмбрионных эксплантов *Cocos nucifera* не только приводит к увеличению числа соматических эмбрионов, но и стимулирует экспрессию гена *CnKNOX1*, принадлежащего к классу *KNOX-I* (Montero-Córtes et al., 2010).

В более ранней работе было показано, что у растений томата, в которых нарушена система подавления гиббереллинового сигналинга (мутант *procera*) или же у растений с нарушением синтеза гиббереллинов (мутант *gib1*, *gibberellin-deficient1*) уровень экспрессии генов *KNOX-I* *TKN1* (*Tomato KN1*) и *TKN2* не был значимо изменён. Тем не менее, мутанты *gib1* демонстрировали нарушения морфологии листьев, характерные для растений с повышенной экспрессией генов *KNOX-I* (рассечённость листьев, наличие эктопических меристем на листьях и пр.). Авторы статьи предполагают, что гиббереллины непосредственно не регулируют экспрессию генов *KNOX-I*, однако снижение концентрации гиббереллинов может сделать ткани листьев более чувствительными к действию этих ТФ (Jasinski et al., 2008).

Возможно также, что гиббереллины регулируют работу генов *KNOX-I* на пост-транскрипционном уровне. В частности показано, что обработка каллусов риса гиббереллином приводит к перемещению белков группы KNOX-I OsKN2 (*Oryza sativa* KN2) и OsKN3 с меткой GFP из ядра в цитоплазму и ядерную оболочку (Kujit et al., 2004).

Таким образом, однозначно установлено, что ТФ KNOX-I напрямую способствуют снижению концентрации гиббереллинов в ПАМ, что поддерживает клетки этой зоны в недифференцированном состоянии. Гиббереллины в свою очередь, вероятно, способны подавлять эффекты генов *KNOX-I*. Такое взаимодействие необходимо не только для работы ПАМ, но и для формирования сложных и простых листьев с различной архитектурой у высших растений (Hay et al., 2002).

KNOX-I И АУКСИНЫ

Взаимодействие генов *KNOX-I* и ауксинов детально не изучено. Оказывая противоположные эффекты на пролиферацию и дифференцировку клеток, они являются антагонистами (Scofield, Murray, 2006), однако конкретные данные об их взаимодействии очень мало.

Сверхэкспрессия гена *Brassica napus BnSTM* в эксплантах арабидопсиса повышает уровень экспрессии ряда генов *Aux/IAA* — ингибиторов ауксинового ответа (Elhiti, Stasola, 2012).

В листьях со сверхэкспрессией гена *KNAT1* наблюдали смещение активности промотора гена *PIN1*, контролирующего полярный транспорт ауксинов, к базальным частям и уменьшение активности ауксин-чувствительного промотора *DR5*, что свидетельствует об уменьшении количества ауксинов или о подавлении их сигналинга (Hay et al., 2006).

Таким образом, имеющиеся данные предполагают отрицательное влияние генов *KNOX-I* на транспорт и передачу сигнала ауксинов.

Обратное влияние, вероятно, также является негативным: эксперименты с белками KNOX-I риса OsKN2 и 3 с меткой GFP (Green Fluorescent Protein) показали, что обработка каллусов риса ауксином НУК (нафтилуксусная кислота) приводит к выходу белков OsKN2-GFP и OsKN3-GFP из ядра в цитоплазму и ядерную оболочку. Напротив, обработка каллусов ингибитором транспорта ауксина (NPA, 1-N-Naphthylphthalamic acid, или 1-N-нафтилфталамовая кислота) приводила к концентрации этих белков в ядре (Kujit et al., 2004).

Экспрессия всех генов *KNOX-I* класса арабидопсиса была увеличена в репродуктивных органах растений, мутантных по генам ауксинового сигналинга — *ARF6* и *ARF8* (Tabata et al., 2010).

В мутантах арабидопсиса по гену *AUXIN-RESISTANCE 1* (*AXR1*), кодирующему один из участников ауксинового сигналинга, наблюдается эктопическая экспрессия гена *KNAT1* в листьях (Hay et al., 2006). К этому же эффекту приводит и подавление экспрессии гена *PIN1* или ингибирование полярного транспорта ауксинов в листьях с помощью NPA (Hay et al., 2006).

У близкого родственника *A. thaliana* — *Cardamine hirsuta* — гены *KNOX-I* экспрессируются в зоне оси листьев для предотвращения преждевременной дифференцировки клеток и развития сложных листьев. Обработка листьев ауксином приводит к подавлению экспрессии *STM* (Barkoulas et al., 2008).

Однако в растениях арабидопсиса, обработанных другим ингибитором транспорта ауксина, ТИВА (2,3,5-triiodobenzoic acid, или 2, 3, 5-трийодобензойная кислота), не было выявлено эктопической экспрессии генов *KNOX-I* (Tsiantis et al., 1999). Более того, в другом исследовании показано, что ТИВА подавляет способность к эмбриогенезу у эмбрионных каллусов арабидопсиса,

однако сверхэкспрессия генов *STM* различных видов рода *Brassica* в каллусах снимает этот эффект ТИВА и делает их способными формировать соматические эмбрионы (Elhiti, Stasola, 2011).

Тем не менее, на сегодняшний день получены лишь данные, говорящие об отрицательном влиянии ауксинов на экспрессию генов *KNOX-I*; таким образом, эти факторы взаимно подавляют друг друга, что, вероятно, необходимо для формирования архитектуры листьев и поддержания активности ПАМ, как и в случае взаимодействия *KNOX-I* и гиббереллинов.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТФ С ФИТОГОРМОНАМИ В КАМ

Несмотря на то, что КАМ имеет много уникальных особенностей, отличающих её от ПАМ, в целом КАМ и ПАМ обладают общими принципами организации, которые, в частности, связаны с наличием ОЦ меристемы и ниш ствольных клеток, о чём говорилось выше. Возможно, такое сходство связано с общим эволюционным происхождением этих ростовых центров растений. Набор ТФ, регулирующих активность КАМ, включает в себя как представителей семейств ТФ, работающих только в КАМ, так и ТФ семейств, общих для разных типов меристем. К последним относятся гены семейства *WOX*. Как в ПАМ, так и в КАМ, члены этого семейства обеспечивают работу ОЦ меристем. Так, важнейшим регулятором развития КАМ, экспрессирующимся в её ОЦ, является ген *WUSCHEL-LIKE HOMEBOX 5 (WOX5)* — паралог гена *WUS*, действующего в ОЦ ПАМ. *WOX5* необходим в КАМ для подавления дифференцировки ствольных клеток (Sarkar et al., 2007).

В КАМ выявлена экспрессия *CLV3*-подобных генов: *CLE19* и *CLE40*, кодирующих CLE-пептиды. Для пептида *CLE40* был обнаружен его предположительный рецептор — *ACR4 (Arabidopsis Crinkly 4)*, сходный с *CLV1*. Предполагают, что *CLE40* может ограничивать область экспрессии *WOX5* в меристеме корня таким же образом, как CLE-пептид *CLV3* ограничивает область экспрессии гена *WUS* в меристеме побега (Stahl, Simon, 2009).

Из всех известных регуляторов развития меристем именно гены *WOX5* и *WUS* представляют собой пару гомологов, выполняющих сходные функции в ПАМ и КАМ: обеспечение функционирования ОЦ меристем. Таким образом, общие структурные особенности ПАМ и КАМ определяются ТФ, родственными друг другу.

ТФ *PLETHORA 1* и *2 (PLT 1* и *2)* также являются важными регуляторами развития КАМ. Они поддерживают ОЦ КАМ и деление ствольных клеток дистальных тканей корня (Aida et al., 2004; Ishida et al., 2009).

Для функционирования ОЦ КАМ и поддержания активности прилежащих ствольных клеток важными являются также ТФ *SCARECROW (SCR)* и *SHORTROOT (SHR)*, принадлежащие семейству *GRAS (GAI/REPRESSOR of GAI/SCARECROW)*.

Потеря функции генов *SCR* и *SHR* приводит к нарушению функционирования покоящегося центра и к изменению радиальной структуры корня. Мишенью ТФ *SCR* и *SHR* являются гены циклинов класса D, экспрессия которых необходима для активации пролиферации растительных клеток (Sozzani et al., 2010). *SHR* экспрессируется в стеле корня. Он мигрирует в ОЦ, ствольные клетки коры и корня и в эндодерму, где индуцирует экспрессию гена *SCR*. Помимо контроля функции ОЦ КАМ, ТФ *SCR* и *SHR* определяют радиальную структуру корня, в частности спецификацию эндодермы (Cui et al., 2007; Helariutta et al., 2000).

Каким же образом основные ТФ КАМ взаимодействуют с фитогормонами?

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ *WOX5* И ФИТОГОРМОНОВ

Показано, что ауксины в КАМ, среди прочего, осуществляют функцию, противоположную (по крайней мере, частично) функции *WOX5*: стимулируют дифференцировку клеток колумеллы. В частности, при избытке ауксинов в кончике корня наблюдалась дифференцировка ствольных клеток колумеллы, и, наоборот, у мутантов по генам, кодирующим ферменты синтеза ауксина или его транспортеры группы PIN, дифференцировка клеток колумеллы была подавлена (Ding, Friml, 2010). У мутантов *wox5-1* накопление ауксинов происходит, судя по всему, так же, как и в норме (если судить по экспрессии репортерного гена *GUS (β-GLUCURONIDASE)* под синтетическим ауксин-чувствительным промотором *DR5* (Sarkar et al., 2007). Показано, что у двойных мутантов по генам транспортеров ауксина (то есть с недостатком ауксинов в КАМ) и по гену *WOX5* наблюдается дифференцировка ствольных клеток колумеллы так же, как у мутантов только лишь по гену *WOX5*. При сверхэкспрессии гена *WOX5* отсутствие дифференцировки клеток колумеллы наблюдается даже в случае добавления больших доз ауксинов в среду. Эти данные позволяют сделать вывод о том, что в данной системе экспрессия гена *WOX5* контролируется ауксинами, а не наоборот (Ding, Friml, 2010).

Таким образом, вероятно, в КАМ ауксины стимулируют дифференцировку клеток колумеллы за счёт подавления экспрессии гена *WOX5*. Было также показано, что в ауксиновой регуляции экспрессии *WOX5* участвует репрессор транскрипции *AXR3 (AUXIN-RESPONSIVE PROTEIN 3)* (принадлежащий к группе *AUX/IAA*), а также факторы ауксинового ответа *ARF10* и *ARF16* (Ding, Friml, 2010).

В ряде экспериментов показано, что в КАМ ауксины подавляют экспрессию *WOX5*, однако данный эффект наблюдается только в КАМ первичного корня. В боковых корнях экспрессия *WOX5* в ОЦ не меняется при действии ауксинов.

Более того, в одной из работ показано, что тотальное количество мРНК гена *WOX5* в проростках арабидопсиса увеличивается под влиянием ауксинов.

В этой же работе высказано предположение о том, что локальное увеличение концентрации ауксина в корне приводит к формированию в этом месте примордия нового латерального корня, в частности за счёт индукции гена *WOX5* (Gonzali et al., 2005). Сходная ситуация наблюдается и при образовании клубеньков у бобовых растений (Osipova et al., 2012).

Кроме этого, на люцерне показано, что уровень экспрессии гена *WOX5* сильно повышен (в 997 раз по сравнению с листом) в корнеобразующих каллусах, которые образуются из листовых эксплантов на среде с ауксином. При этом уровень экспрессии измерялся у каллусов, которые только начали формироваться, то есть у них ещё не было корней. Повышение уровня экспрессии гена *WOX5* на столь раннем этапе, вероятно, говорит о его роли не только в формировании и поддержании ОЦ, но и в формировании ниш ствольных клеток, которое предшествует образованию корневого примордия (Imin et al., 2007).

Данные о влиянии *WOX5* на ауксины немногочисленны. Показано, что этот ТФ подавляет экспрессию гена *SUR2* (*SUPERROOT2*), отвечающего за инактивацию ауксинов. Таким образом, этот ТФ предположительно способствует увеличению концентрации ауксинов (Творогова, 2012, Gonzali et al., 2005).

Цитокинины также оказывают влияние на экспрессию гена *WOX5*. Как было сказано выше, культивация каллусов на среде с ауксином приводит к образованию корней, что сопровождается повышением уровня экспрессии *WOX5*. Однако если в среде присутствуют и цитокинин, и ауксин, то вместо образования корней на каллусах наблюдается образование соматических эмбрионов. В этом случае наблюдаемый уровень экспрессии гена *WOX5* примерно в три раза ниже, чем при культивировании на среде только с ауксином (Chen et al., 2009; Imin et al., 2006). Можно, таким образом, предположить, что цитокинины подавляют экспрессию *WOX5*, непосредственно или же через ингибирование действия ауксинов.

ТФ *PLT1*, *2*, *SCR*, *SHR* И ФИТОГОРМОНЫ.

Наиболее подробно изучено взаимодействие ТФ *PLT* с ауксинами. Было показано, что уровень экспрессии генов *PLT1* и *PLT2* увеличивается в ответ на обработку ИУК или НУК в интервале между 5 и 24 часами обработки. Паттерн их экспрессии в целом совпадает с паттерном экспрессии репортерного гена *GUS* под ауксин-чувствительным промотором *DR5*. *PLT1* и *PLT2* активируются за счёт ауксин-чувствительных ТФ группы *ARF* — *MONOPTEROS* и *NON-PHOTOTROPIC HYPOCOTYL 4* (последний действует лишь в раннем эмбриогенезе). Сверхэкспрессия гена *SLR* (*SOLITARY-ROOT*) из группы репрессоров ауксинового ответа *AUX/IAA* подавляет стимуляцию ауксином экспрессии *PLT1* и *PLT2* (Aida et al., 2004).

Было также показано, что работа рецептора ауксина *ABP1*, функционирующего параллельно с системой *AUX/IAA-ARF*, важна для экспрессии генов *PLT*. Когда работу *ABP1* подавляли с помощью антител, зона экспрессии *PLT1* и *2* в КАМ значительно сужалась (Tomas et al., 2009).

Недавно была выдвинута гипотеза, что ауксины контролируют работу *PLT1* и *2* посредством индукции экспрессии гена *TPST* (*TYROSYLPROTEIN SULFOTRANSFERASE*), кодирующего тирозилпротеинсульфотрансферазу. Этот фермент за счёт сульфатирования, как предполагается, активирует ряд сигнальных пептидов, в том числе — факторов роста КАМ (*RGF*, *Root meristem Growth Factors*). *RGF* были открыты недавно. Это секретируемые пептиды, которые экспрессируются в КАМ и участвуют в поддержании ниши ствольных клеток (Matsuzaki et al., 2010).

Было показано, что обработка ИУК индуцирует экспрессию генов *TPST* и *RGF5–9*. Кроме того, в мутантах по гену *TPST* уровень экспрессии *PLT1* и *2* сильно уменьшен, и обработка ауксином таких мутантов не повышает его до уровня дикого типа (Zhou et al., 2010).

Показано, что результатом возникновения градиента концентрации ауксинов в кончике корня является дифференциальная экспрессия генов *PLT*: высокий уровень их экспрессии способствует поддержанию ствольных клеток, более низкий уровень индуцирует митотические деления инициалей, а при наименьшем уровне становится возможной дифференцировка клеток (Galinha et al., 2007).

В соответствии с этими данными, распределение белков *PIN*, транспортёров ауксина, влияет на паттерны экспрессии ауксин-регулируемых генов *PLT1* и *2*. В свою очередь, *PLT1* и *2* влияют на экспрессию генов *PIN*. В частности, в мутантах *plt1plt2* в отличие от дикого типа, практически не детектируется экспрессия гена *PIN4*, а экспрессия *PIN1* и *3* у таких мутантов отсутствует в проваскулярной зоне (Bilou et al., 2004).

Данных о взаимодействии ТФ *SHR* и *SCR* с фитогормонами в КАМ на сегодняшний день получено немного. Показано, что в проростках с потерей функции *SHR* концентрация ауксинов в кончиках корней повышена, а также снижен уровень экспрессии генов *PIN*, контролирующих полярный транспорт ауксинов (Lucas et al., 2011).

Известно также, что ТФ *SHR* и *SCR* напрямую активируют экспрессию гена *SCL3* (*SCARECROW-LIKE3*), принадлежащего к тому же семейству *GRAS*. *SCL3*, в свою очередь, активирует гиббереллиновый сигналинг за счёт антагонизма с *DELLA*-белками (также ТФ семейства *GRAS*), ингибиторами гиббереллинового ответа (Zhang et al., 2011). Таким образом, *SHR* и *SCR* опосредованно стимулируют работу гиббереллинов.

Таким образом, в КАМ среди гормонов наибольшую роль во взаимодействии с ТФ играет, по всей видимости, ауксин, однако, возможно, эта выявленная закономерность является следствием недостаточной изученности взаимодействия ТФ и гормонов в корне.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение хотелось бы кратко изложить основные тенденции во взаимодействии меристематических ТФ и основных фитогормонов.

В ПАМ ТФ WUS и цитокинины, по-видимому, связаны положительной обратной связью. Цитокинины активируют экспрессию гена WUS через CLV-зависимый и CLV-независимый пути, в то время как WUS стимулирует цитокининовый сигналинг.

Влияние ауксинов на ТФ WUS неоднозначно, в то же время WUS, согласно имеющимся данным, подавляет действие ауксинов.

ТФ KNOX-I и цитокинины так же, как и в случае с цитокининами и WUS, связаны положительной обратной связью. По-видимому, принцип положительной обратной связи является важным регуляторным механизмом в меристемах. Такой вид связи позволяет усиливать положительное влияние ТФ и гормонов на пролиферацию клеток и обуславливает большую устойчивость регуляторной системы к различным изменениям.

Гиббереллины и ауксины являются антагонистами ТФ KNOX-I.

Для КАМ получено гораздо меньше данных, касающихся взаимодействия работающих в ней ТФ и гормонов. Наибольшее влияние на ТФ КАМ оказывают ауксины, которые стимулируют экспрессию генов *PLT1* и *2* (они, в свою очередь, индуцируют экспрессию генов транспортёров ауксина) и подавляют работу ТФ *WOX5*. Влияние ауксинов на экспрессию гена *WOX5* в целом не вполне однозначно; в частности, при закладке латеральных корней, ауксины, по всей видимости, напротив, стимулируют экспрессию *WOX5*. Цитокинины, предположительно, подавляют экспрессию *WOX5*.

Более подробно эти данные изложены на рисунках 2 и 3.

Можно заметить, что в большинстве случаев влияние ТФ на фитогормоны изучено более подробно, чем влияние фитогормонов на работу ТФ. Возможно, это связано со сложностью проведения экспериментов по выявлению влияния гормонов на экспрессию генов.

Действие гормонов контролируется с помощью большого числа генов, отвечающих за их синтез, транспорт, активацию, деградацию, сигналинг и прочее.

Рассмотренные нами ТФ, изменяя экспрессию этих генов, регулируют действие гормонов на различных уровнях.

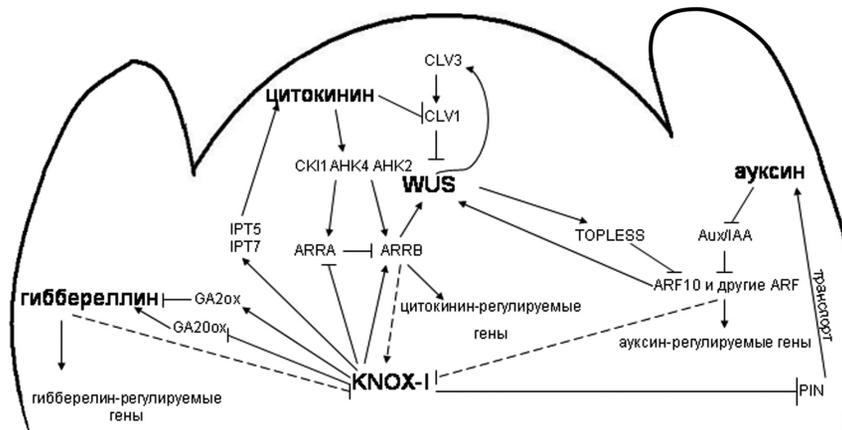


Рис. 2. Взаимодействие основных ТФ и фитогормонов в ПАМ ТФ WUSCHEL (WUS), синтезируемый в ОЦ, стимулирует экспрессию гена *CLAVATA3* (*CLV3*) в центральной зоне ПАМ. *CLV3*, секретируемый пептид, мигрирует к соседним клеткам и связывается со своим рецептором *CLAVATA1* (*CLV1*). Этот сигнал подавляет экспрессию WUS, ограничивая её в пределах ОЦ. Цитокининовый сигналинг осуществляется через сенсорные гистидин-киназы (в частности, *CYTOKININ INSENSITIVE1* (*CK1*), *ARABIDOPSIS HISTIDIN KINASE 4* (*АНК4*) и *АНК2*), которые передают сигнал на ТФ *ARR B* типа (*Type B ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR*), осуществляющие цитокининовый ответ, и *ARR A*-типа, ингибиторы цитокининового сигналинга, подавляющие действие *ARR-B*. Предположительно, посредством этого сигнального пути цитокинин, подавляет экспрессию *CLV1*, тем самым стимулируя экспрессию гена WUS. Также цитокинин, предположительно, стимулирует экспрессию генов *KNOX-I*, а ТФ *KNOTTED-LIKE HOMEOBOX I* класса (*KNOX-I*), в свою очередь, стимулируют экспрессию генов, отвечающих за синтез цитокининов, *ISOPENTENYL TRANSFERASE 5* (*IPT5*) и *IPT7*, а также генов участников цитокининового сигналинга, *CK1* и *ARRB*, и подавляют экспрессию *ARR-A*. Также *KNOX-I* снижают концентрацию гиббереллинов за счёт репрессии транскрипции гена *GA20ox* (*Gibberellic Acid-20 oxidase*), отвечающего за их синтез, и индукции экспрессии *GA2ox*, продукт которого инактивирует эти гормоны. Гиббереллины, в свою очередь, предположительно, ингибируют экспрессию *KNOX-I*. Ауксиновый сигналинг осуществляется за счёт протеолиза ингибиторов ауксинового ответа *AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID* (*Aux/IAA*), подавляющих работу ТФ *AUXIN RESPONSE FACTOR* (*ARF*). *KNOX-I* индуцируют транскрипцию генов *Aux/IAA*, подавляя ауксиновый ответ, а также подавляют экспрессию генов *PIN-FORMED* (*PIN*), отвечающих за транспорт ауксина. Ауксин, в свою очередь, предположительно, посредством факторов *ARF 6* и *8*, подавляет экспрессию генов *KNOX-I*. Также ауксин подавляет транскрипцию гена WUS через *ARF10*. WUS индуцирует экспрессию гена *TOPLESS*, кодирующего ингибитор ауксинового сигналинга, и, таким образом, подавляет работу ауксина. Стрелки с острыми концами — индукция, стрелки с тупыми концами — репрессия, пунктирные стрелки — предполагаемое воздействие

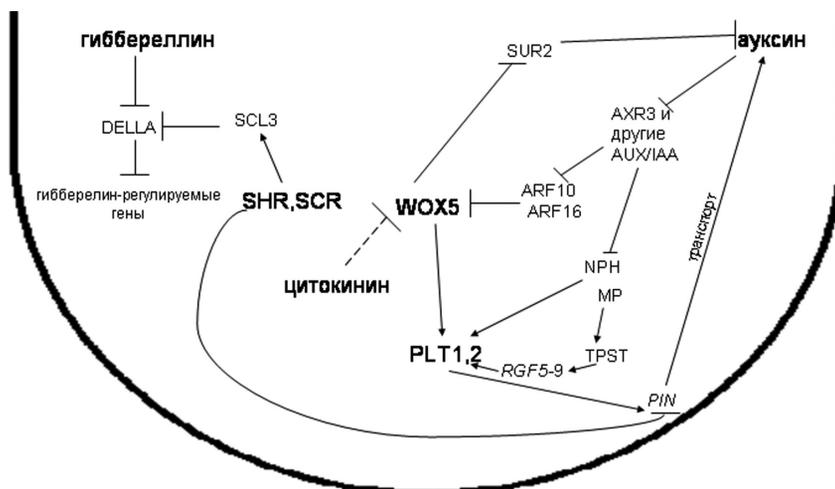


Рис. 3. Взаимодействие основных ТФ и фитогормонов в КАМ. ТФ WUSCHEL-LIKE HOMEОBOX (WOX5) подавляет экспрессию гена *SUPERROOT2* (*SUR2*), продукт которого инактивирует ауксин. Ауксин в КАМ, в свою очередь, через фактор AUXIN-RESPONSIVE PROTEIN 3 (AXR3) (принадлежит к группе ингибиторов ауксинового сигналинга AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID (Aux/IAA)) и ТФ AUXIN RESPONSE FACTORS (ARF) 10 и 16 подавляет экспрессию *WOX5*. Также экспрессия *WOX5*, предположительно, ингибируется цитокинином. Через ТФ группы ARF NONPHOTOTROPHIC HYPOCOTYL 4 (NPH4) и MONOPTEROS (MP) ауксин стимулирует экспрессию генов *PLETHORA 1* (*PLT1*) и *PLT2*. Возможно, эта регуляция осуществляется через индукцию экспрессии гена *TPST* (*Tyrosylprotein Sulfotransferase*), кодирующего тирозилфосфотрансферазу, которая активирует сигнальные пептиды ROOT GROWTH FACTORS 5-9 (RGF 5-9) за счёт сульфатирования. RGF5-9, в свою очередь, стимулируют экспрессию *PLT1* и *2*. *PLT1* и *2* стимулируют экспрессию генов *PIN-FORMED* (*PIN*), отвечающих за транспорт ауксина. ТФ SHORT-ROOT (SHR) и SCARECROW (SCR), напротив, подавляют экспрессию *PIN*. Кроме того, они стимулируют экспрессию гена *SCARECROW-LIKE 3* (*SCL3*), который способствует работе гиббереллинов посредством антагонизма с белками DELLA, ингибиторами гиббереллинового ответа. Стрелки с острыми концами — индукция, стрелки с тупыми концами — репрессия, пунктирные стрелки — предполагаемое воздействие

Таким образом, меристематические ТФ, характеризующиеся специфичным паттерном экспрессии, локально модулируют действие фитогормонов, циркулирующих в тканях растений. Наложение паттерна экспрессии меристематических ТФ на распределение гормонов в организме растения определяет образование зон активных клеточных делений — меристем, которые, в конечном счёте, обуславливают архитектуру всего растения, его размеры и форму.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лутова Л.А., Долгих Е.А., Додуева И.Е. и др., 2012. Изучение системного контроля деления и дифференцировки клеток растений на примере опухолевого роста у редиса // Генетика. Т. 44. С. 1075–1083.
2. Синнот Э., 1963. Морфогенез растений. М.: Издательство иностранной литературы. 603 с.
3. Творогова В.Е., 2012. Взаимодействие генов KNOX и WOX и фитогормонов у инбредных линий редиса со спонтанным опухолеобразованием. Магистерская диссертация. СПб., 70 с.
4. Aida M., Beis D., Heidstra R. et al., 2004. The PLETHORA genes mediate patterning of the Arabidopsis root stem cell niche // Cell. Vol. 119. P. 109–120.
5. Aloni R., Schwalm K., Langhans M., Ullrich C.I., 2003. Gradual shifts in sites of free-auxin production during leaf-primordium development and their

- role in vascular differentiation and leaf morphogenesis in Arabidopsis // Planta. Vol. 216. P. 841–853.
6. Atta R., Laurens L., Boucheron-Dubuisson E. et al., 2009. Pluripotency of Arabidopsis xylem pericycle underlies shoot regeneration from root and hypocotyl explants grown in vitro // The Plant Journal. Vol. 57. P. 626–644.
7. Bao Y., Dharmawardhana P., Arias R. et al., 2009. WUS and STM-based reporter genes for studying meristem development in poplar // Plant Cell Rep. Vol. 28. P. 947–962.
8. Barkoulas M., Hay A., Kougioumoutzi E., Tsiantis M., 2008. A developmental framework for dissected leaf formation in the Arabidopsis relative Cardamine hirsuta // Nature Genetics. Vol. 40. P. 1136–1141.
9. Barton M.K., 2010. Twenty years on: The inner workings of the shoot apical meristem, a developmental dynamo // Developmental Biology. Vol. 341. P. 95–113.
10. Bolduc N., Hake S., 2009. The Maize Transcription Factor KNOTTED1 Directly Regulates the Gibberellin Catabolism Gene *ga2ox1* // Plant Cell. Vol. 21. P. 1647–1658.
11. Buechel S., Leibfried A., To J.P.C. et al., 2010. Role of A-type ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATORS in meristem maintenance and regeneration // Eur. J. Cell Biol. Vol. 89. P. 279–284.
12. Busch W., Miotk A., Ariel F.D. et al., 2010. Transcriptional control of a plant stem cell niche // Dev. Cell. Vol. 18. P. 849–861.

13. Chen H., Banerjee A.K., Hannapel D.J., 2004. The tandem complex of BEL and KNOX partners is required for transcriptional repression of *ga20ox1* // The Plant Journal. Vol. 38. P. 276–284.
14. Chen H., Rosin F.M., Prat S., Hannapel D.J., 2003. Interacting transcription factors from the three-amino acid loop extension superclass regulate tuber formation // Plant Physiol. Vol. 132. P. 1391–1404.
15. Chen S.-K., Kurdyukov S., Kereszt A. et al., 2009. The association of homeobox gene expression with stem cell formation and morphogenesis in cultured *Medicago truncatula* // Planta. Vol. 230. P. 827–840.
16. Chickarmane V., Gordon S., Tarr P. et al., 2012. Cytokinin signaling as a positional cue for patterning the apical-basal axis of the growing *Arabidopsis* shoot meristem // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. Vol. 109. P. 4002–4007.
17. Craft J., Samalova M., Baroux et al., 2005. New pOp/LhG4 vectors for stringent glucocorticoid-dependent transgene expression in *Arabidopsis* // The Plant Journal. Vol. 41. P. 899–918.
18. Cui H., Levesque M.P., Vernoux T. et al., 2007. An Evolutionarily Conserved Mechanism Delimiting SHR Movement Defines a Single Layer of Endodermis in Plants // Science. Vol. 316. P. 421–425.
19. Ding Z., Friml J., 2010. Auxin regulates distal stem cell differentiation in *Arabidopsis* roots // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. Vol. 107. P. 12046–12051.
20. Elhiti M., Stasolla C., 2011. Ectopic expression of the *Brassica* SHOOTMERISTEMLESS attenuates the deleterious effects of the auxin transport inhibitor TIBA on somatic embryo number and morphology // Plant Sci. Vol. 180. P. 383–390.
21. Elhiti M., Stasolla C., 2012. *In vitro* shoot organogenesis and hormone response are affected by the altered levels of *Brassica napus* meristem genes // Plant Science. Vol. 190. P. 40–51.
22. Galinha C., Bilsborough G., Tsiantis M., 2009. Hormonal input in plant meristems: A balancing act. Semin // Cell Dev. Biol. Vol. 20. P. 1149–1156.
23. Galinha C., Hofhuis H., Luijten M. et al., 2007. PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of *Arabidopsis* root development // Nature. Vol. 449. P. 1053–1057.
24. Gallois J.-L., Nora F.R., Mizukami Y., Sablowski R., 2004. WUSCHEL induces shoot stem cell activity and developmental plasticity in the root meristem // Genes Dev. Vol. 18. P. 375–380.
25. Gao X.-H., Xiao S.-L., Yao Q.-F. et al., 2011. An Updated GA Signaling «Relief of Repression» Regulatory Model // Mol. Plant. Vol. 4. P. 601–606.
26. Gonzali S., Novi G., Loreti E. et al., 2005. A turanose-insensitive mutant suggests a role for WOX5 in auxin homeostasis in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. Vol. 44. P. 633–645.
27. Gordon S.P., Chickarmane V.S., Ohno C., Meyerowitz E.M., 2009. Multiple feedback loops through cytokinin signaling control stem cell number within the *Arabidopsis* shoot meristem // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. Vol. 106. P. 16529–16534.
28. Hamant O., Pautot V., 2010. Plant development: a TALE story // C.R. Biol. Vol. 333, 371–381.
29. Hay A., Barkoulas M., Tsiantis M., 2006. ASYMMETRIC LEAVES1 and auxin activities converge to repress BREVIPEDICELLUS expression and promote leaf development in *Arabidopsis* // Development. Vol. 133. P. 3955–3961.
30. Hay A., Kaur H., Phillips A. et al., 2002. The gibberellin pathway mediates KNOTTED1-type homeobox function in plants with different body plans // Curr. Biol. Vol. 12. P. 1557–1565.
31. Hedden P., Thomas S.G., 2012. Gibberellin biosynthesis and its regulation // Biochem. J. Vol. 444. P. 11–25.
32. Helariutta Y., Fukaki H., Wysocka-Diller J. et al., 2000. The SHORT-ROOT Gene Controls Radial Patterning of the *Arabidopsis* Root through Radial Signaling // Cell. Vol. 101. P. 555–567.
33. Hoth S., Ikeda Y., Morgante M. et al., 2003. Monitoring genome-wide changes in gene expression in response to endogenous cytokinin reveals targets in *Arabidopsis thaliana* // FEBS Letters. Vol. 554. P. 373–380.
34. Imin N., Nizamidin M., Wu T., Rolfe B.G., 2007. Factors involved in root formation in *Medicago truncatula* // J. Exp. Bot. Vol. 58. P. 439–451.
35. Ishida T., Fujiwara S., Miura K. et al., 2009. SUMO E3 ligase HIGH PLOIDY2 regulates endocycle onset and meristem maintenance in *Arabidopsis* // Plant Cell. Vol. 21. P. 2284–2297.
36. Jasinski S., Piazza P., Craft J. et al., 2005. KNOX Action in *Arabidopsis* Is Mediated by Coordinate Regulation of Cytokinin and Gibberellin Activities // Current Biology. Vol. 15. P. 1560–1565.
37. Jasinski S., Tattersall A., Piazza P. et al., 2008. PROCERA encodes a DELLA protein that mediates control of dissected leaf form in tomato // The Plant Journal. Vol. 56. P. 603–612.
38. Kamada-Nobusada T., Sakakibara H., 2009. Molecular basis for cytokinin biosynthesis // Phytochemistry. Vol. 70. P. 444–449.
39. Kuijt S.J.H., Lamers G.E.M., Rueb S. et al., 2004. Different subcellular localization and trafficking properties of KNOX class 1 homeodomain proteins from rice // Plant Mol. Biol. Vol. 55. P. 781–796.
40. Kurakawa T., Ueda N., Maekawa M. et al., 2007. Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin-activating enzyme // Nature. Vol. 445. P. 652–655.
41. Kusaba S., Fukumoto M., Honda C. et al., 1998b. Decreased GAI Content Caused by the Overexpression of OSH1 Is Accompanied by Suppression of GA 20-Oxidase Gene Expression // Plant Physiology. Vol. 117. P. 1179.

42. Kusaba S., Kano-Murakami Y., Matsuoka M. et al., 1998a. Alteration of Hormone Levels in Transgenic Tobacco Plants Overexpressing the Rice Homeobox Gene OSH1 // *Plant Physiology*. Vol. 116. P. 471.
43. Leibfried A., To J.P.C., Busch W. et al., 2005. WUSCHEL controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators // *Nature*. Vol. 438. P. 1172–1175.
44. Lindsay D.L., Sawhney V.K., Bonham-Smith P.C. et al., 2006. Cytokinin-induced changes in CLAVATA1 and WUSCHEL expression temporally coincide with altered floral development in *Arabidopsis* // *Plant Sci*. Vol. 170. P. 1111–1117
45. Liu J., Ha D., Xie Z. et al., 2008. Ectopic expression of soybean GmKNT1 in *Arabidopsis* results in altered leaf morphology and flower identity // *Journal of Genetics and Genomics*. Vol. 35. P. 441–449.
46. Lucas M., Swarup R., Paponov I.A. et al., 2011. SHORT-ROOT Regulates Primary, Lateral, and Adventitious Root Development in *Arabidopsis*//*Plant Physiol*. Vol. 155. P. 384–398.
47. Matsuzaki Y., Ogawa-Ohnishi M., Mori A., Matsubayashi Y., 2010. Secreted peptide signals required for maintenance of root stem cell niche in *Arabidopsis*//*Science*. Vol. 329. P. 1065–1067.
48. Montero-Córtés M., Sáenz L., Córdova I. et al., 2010. GA3 stimulates the formation and germination of somatic embryos and the expression of a KNOTTED-like homeobox gene of *Cocos nucifera* (L.) // *Plant Cell Rep*. Vol. 29. P. 1049–1059.
49. Müller R., Bleckmann A., Simon R., 2008. The receptor kinase CORYNE of *Arabidopsis* transmits the stem cell-limiting signal CLAVATA3 independently of CLAVATA1 // *Plant Cell*. Vol. 20. P. 934–946.
50. Osipova M.A., Mortier V., Demchenko K.N. et al., 2012. Wuschel-related homeobox5 gene expression and interaction of CLE peptides with components of the systemic control add two pieces to the puzzle of autoregulation of nodulation // *Plant Physiol*. Vol. 158. P. 1329–1341.
51. Perales M., Reddy G.V., 2012. Stem cell maintenance in shoot apical meristems // *Current Opinion in Plant Biology*. Vol. 15. P. 10–16.
52. Qiao M., Zhao Z., Song Y. et al., 2012. Proper regeneration from in vitro cultured *Arabidopsis thaliana* requires the microRNA-directed action of an auxin response factor // *Plant J*. Vol. 71. P. 14–22.
53. Riou-Khamlichi C., Huntley R., Jacquemard A., Murray J.A., 1999. Cytokinin activation of *Arabidopsis* cell division through a D-type cyclin // *Science*. Vol. 283. P. 1541–1544.
54. Rupp H.-M., Frank M., Werner et al., 1999. Increased steady state mRNA levels of the STM and KNAT1 homeobox genes in cytokinin overproducing *Arabidopsis thaliana* indicate a role for cytokinins in the shoot apical meristem // *The Plant Journal*. Vol. 18. P. 557–563.
55. Sablowski R., 2007. The dynamic plant stem cell niches//*Current Opinion in Plant Biology*. Vol. 10. P. 639–644.
56. Sakamoto T., Kamiya N., Ueguchi-Tanaka M. et al., 2001. KNOX homeodomain protein directly suppresses the expression of a gibberellin biosynthetic gene in the tobacco shoot apical meristem // *Genes Dev*. Vol. 15. P. 581–590.
57. Salvini M., Sani E., Fambrini M. et al., 2012. Molecular analysis of a sunflower gene encoding an homologous of the B subunit of a CAAT binding factor // *Mol. Biol. Rep*. Vol. 39. P. 6449–6465.
58. Sarkar A.K., Luijten M., Miyashima S. et al., 2007. Conserved factors regulate signalling in *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers // *Nature*. Vol. 446. P. 811–814.
59. Sauer M., Kleine-Vehn J., 2011. AUXIN BINDING PROTEIN1: the outsider // *Plant Cell*. Vol. 23. P. 2033–2043.
60. Scofield S., Murray J.A.H., 2006. KNOX gene function in plant stem cell niches//*Plant Mol. Biol*. Vol. 60. P. 929–946.
61. Skoog F., Miller C.O., 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue culture in vitro // *Symp. Soc. Exp. Biol*. Vol. 11. P. 118–131.
62. Sinha N.R., Williams R.E., Hake S., 1993. Overexpression of the maize homeo box gene, KNOTTED-1, causes a switch from determinate to indeterminate cell fates // *Genes Dev*. Vol. 7. P. 787–795.
63. Souček P., Klíma P., Reková A., Brzobohatý B., 2007. Involvement of hormones and KNOX1 genes in early *Arabidopsis* seedling development // *J. Exp. Bot*. Vol. 58. P. 3797–3810.
64. Sozzani R., Cui H., Moreno-Risueno M.A. et al., 2010. Spatiotemporal regulation of cell-cycle genes by SHORTROOT links patterning and growth // *Nature*. Vol. 466. P. 128–132.
65. Srinivasan C., Liu Z., Scorza R., 2011. Ectopic expression of class 1 KNOX genes induce adventitious shoot regeneration and alter growth and development of tobacco (*Nicotiana tabacum* L) and European plum (*Prunus domestica* L)// *Plant Cell Rep*. Vol. 30. P. 655–664.
66. Stahl Y., Simon R., 2010. Plant primary meristems: shared functions and regulatory mechanisms // *Current Opinion in Plant Biology*. Vol. 13. P. 53–58.
67. Su Y.H., Zhao X.Y., Liu Y.B. et al., 2009. Auxin-induced WUS expression is essential for embryonic stem cell renewal during somatic embryogenesis in *Arabidopsis* // *Plant J*. Vol. 59. P. 448–460.
68. Tabata R., Ikezaki M., Fujibe T., et al., 2010. *Arabidopsis* AUXIN RESPONSE FACTOR6 and 8 Regulate Jasmonic Acid Biosynthesis and Floral Organ Development via Repression of Class 1 KNOX Genes // *Plant Cell Physiol*. Vol. 51. P. 164–175.

69. Tan X., Calderon-Villalobos L.I.A., Sharon M. et al., 2007. Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase // *Nature*. Vol. 446. P. 640–645.
70. Teo W.L., Kumar P., Goh C.J., Swarup S., 2001. The expression of *Brostm*, a KNOTTED1-like gene, marks the cell type and timing of in vitro shoot induction in *Brassica oleracea* // *Plant Mol. Biol.* Vol. 46. P. 567–580.
71. To J.P.C., Kieber J.J., 2008. Cytokinin signaling: two components and more // *Trends Plant Sci.* Vol. 13. P. 85–92.
72. Tromas A., Braun N., Muller P. et al., 2009. The AUXIN BINDING PROTEIN 1 is required for differential auxin responses mediating root growth // *PLoS ONE*. Vol. 4. P. e6648.
73. Tsiantis M., Brown M.I.N., Skibinski G., Langdale J.A., 1999. Disruption of Auxin Transport Is Associated with Aberrant Leaf Development in Maize // *Plant Physiol.* Vol. 121. P. 1163–1168.
74. van der Graaff E., Laux T., Rensing S.A., 2009. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family // *Genome Biol.* Vol. 10. P. 248.
75. Yadav R.K., Reddy G.V., 2012. WUSCHEL protein movement and stem cell homeostasis // *Plant signaling & behavior*. Vol. 7.
76. Yadav R.K., Tavakkoli M., Reddy G.V., 2010. WUSCHEL mediates stem cell homeostasis by regulating stem cell number and patterns of cell division and differentiation of stem cell progenitors // *Development*. Vol. 137. P. 3581–3589.
77. Yanai O., Shani E., Dolezal K. et al., 2005. *Arabidopsis* KNOXI Proteins Activate Cytokinin Biosynthesis // *Current Biology*. Vol. 15. P. 1566–1571.
78. Yang S., Yu H., Xu Y., Goh C.J., 2003. Investigation of cytokinin-deficient phenotypes in *Arabidopsis* by ectopic expression of orchid DSCCKX1 // *FEBS Lett.* Vol. 555. P. 291–296.
79. Zhang Z.-L., Ogawa M., Fleet C.M. et al., 2011. SCARECROW-LIKE 3 promotes gibberellin signaling by antagonizing master growth repressor DELLA in *Arabidopsis* // *Proc Natl Acad Sci U S A*. Vol. 108. P. 2160–2165.
80. Zhou W., Wei L., Xu J. et al., 2010. *Arabidopsis* Tyrosyl-protein Sulfotransferase Acts in the Auxin/PLETHORA Pathway in Regulating Postembryonic Maintenance of the Root Stem Cell Niche // *Plant Cell*. Vol. 22. P. 3692–3709.

INTERACTION BETWEEN TRANSCRIPTIONAL FACTORS AND PHYTOHORMONES IN REGULATION OF PLANT MERISTEMS ACTIVITY

Tvorogova V.Y., Osipova M.A., Doduyeva I.Y., Lutova L.A.

✪ **SUMMARY:** Plant growth and development are controlled by large regulatory network which modulates activity of special groups of cells — apical meristems. This control is performed by means of phytohormones and transcriptional factors, the regulators of gene expression. In this review principal transcriptional factors regulating plant apical meristems are described, and the data are presented about their interactions with the most important plant hormones, auxins, cytokinins and gibberellins. General tendencies of these interactions are depicted.

✪ **KEY WORDS:** meristems; auxins; cytokinins; gibberellins; KNOX; WOX.

✪ Информация об авторах

Творогова Варвара Евгеньевна — магистр, лаборатория генной и клеточной инженерии растений, кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ. 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб. д. 7/9. E-mail: krubaza@mail.ru.

Осипова Мария Александровна — к.б.н., лаборатория генной и клеточной инженерии растений, кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ. 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб. д. 7/9. E-mail: mary_osipova@mail.ru.

Додуева Ирина Евгеньевна — к.б.н., лаборатория генной и клеточной инженерии растений, кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ. 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб. д. 7/9. E-mail: wildtype@yandex.ru.

Лутова Людмила Алексеевна — д.б.н., лаборатория генной и клеточной инженерии растений, кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ. 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб. д. 7/9. E-mail: la_lutova@mail.ru.

Tvorogova Varvara Yevgenyevna — Master of biology, Laboratory of gene and cellular engineering of plants, department of genetics and biotechnology, SPbSU. Universitetskaya nab., 7/9, Saint-Petersburg, 199034, Russia. E-mail: krubaza@mail.ru.

Osipova Mariya Aleksandrovna — PhD of biology, Laboratory of gene and cellular engineering of plants, department of genetics and biotechnology, SPbSU. Universitetskaya nab., 7/9, Saint-Petersburg, 199034, Russia. E-mail: mary_osipova@mail.ru.

Doduyeva Irina Yevgenyevna — PhD of biology, Laboratory of gene and cellular engineering of plants, department of genetics and biotechnology, SPbSU. Universitetskaya nab., 7/9, Saint-Petersburg, 199034, Russia. E-mail: wildtype@yandex.ru.

Lutova Lyudmila Alekseyevna — Doctor of biology, Laboratory of gene and cellular engineering of plants, department of genetics and biotechnology, SPbSU. Universitetskaya nab., 7/9, Saint-Petersburg, 199034, Russia. E-mail: la_lutova@mail.ru.