

УДК 581.1

Генетическая и эпигенетическая регуляция развития растительных организмов (обзор)

С.С. Медведев*, Е.И. Шарова

Санкт-Петербургский государственный университет,
Россия 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9¹

Received 4.06.2010, received in revised form 11.06.2010, accepted 18.06.2010

Центральной проблемой биологии развития является вопрос о том, каким образом многократное деление всего одной клетки приводит к формированию организма, обладающего многоклеточными системами органов и тканей, не похожих друг на друга. Ответ на этот вопрос, как правило, лежит в дифференциальной экспрессии генов в клетках, составляющих эти ткани и органы. Именно дифференциальная активность генома – основа и структурных, и функциональных различий между разными клетками одного и того же организма, т.е. клеточной дифференцировки. Именно геном служит основным носителем информации о том, как растению пройти путь от семени до семени. Однако ген функционирует в некой среде, которая не может не оказывать влияние на характер его экспрессии. Поэтому реализация информации, заключенной в геноме, будет зависеть не только от нуклеотидных последовательностей конкретных генов, но также и от внешних условий, состояния хроматина, модификаций ДНК и ее транскриптов, т.е. находится под эпигенетическим контролем. Свообразными «переключателями» программ развития клеток могут также служить открытые недавно малые РНК.

Ключевые слова: биология развития растений, транскрипционные факторы, эпигенетика, модификация ДНК и гистонов, малые РНК, микроРНК.

Гены-регуляторы развития растений

Гены, которые детерминируют процессы роста и дифференцировки, часто называют генами-регуляторами (переключателями) развития. Они кодируют особые белки – транскрипционные факторы, контролирующие программы формирования органов и тканей растения. Иногда эти гены также называют гомеозисными. Мутации в гомеозисных генах могут вызвать трансформацию одной части тела в другую. Гомеозисными мутантами называются те, у которых на месте

нормального органа развивается орган другого типа. Например, у дрозофилы при мутации *antennapedia* формируется антенна вместо ноги (Abbott, Kaufman, 1986). Гомологичные генам дрозофилы гомеозисные гены идентифицированы и у других животных. У растительных организмов также известны процессы, которые контролируются гомеозисными генами: филлотаксис, развитие цветков и соцветий (Coen, 1991; Weigel, Meyerowitz, 1993).

Подсчитано, что высшие растения могут содержать от 25000 до 50000 генов (Tuagi,

* Corresponding author E-mail address: ssmmedvedev@mail.ru

¹ © Siberian Federal University. All rights reserved

2001). Треть из них экспрессируется во всех органах растительного организма (хотя и на разном уровне), продукты второй трети присутствуют лишь в некоторых органах, а остальные гены экспрессируются только в каком-то одном органе. Анализ экспрессии 8300 генов арабидопсиса, проведенный в 2001 г. группой американских исследователей под руководством Zhu, показал, что 64 гена специфически экспрессируются только в корнях, 94 – в листьях, 3 – в цветоносах, а 36 – в цветках растений. В составе генов, которые экспрессируются только в определенных органах, были найдены промоторы, обеспечивающие орган-специфическую экспрессию генов, причем в определенное время. У высших растений наиболее хорошо изучено функционирование двух типов генов-регуляторов развития: гомеобоксодержащих и генов с MADS-боксом.

Гомеобоксодержащие гены определяются по наличию характерной последовательности ДНК из приблизительно 180 пар нуклеотидов (гомеобокса), кодирующей гомеодомен – консервативный участок ряда транскрипционных факторов. Эта нуклеотидная последовательность типична для генов каскадного типа регуляции развития (Chan et al., 1998; Reiser et al., 2000).

Первым клонированным геном растений, кодирующим гомеодоменсодержащий белок, был *KNOTTED1 (KNI)* кукурузы. Мутация *knotted 1* приводит к тому, что ген *KNI* начинает экспрессироваться в несоответствующее время и не в том месте. У мутантов *kn1* вокруг уже дифференцированных клеток листа появляются группы клеток, которые еще продолжают делиться (Hake, Ori, 2002). Группы делящихся клеток, расположенные вдоль сосудистых элементов по всей листовой пластинке, образуют так называемые узлы (knots). Позднее было обнаружено целое

семейство генов, подобных *KNI*, названное *KNOX (KNOTTED1-like HOMEOBOX)*. Сверхэкспрессия генов семейства *KNOX* также искажает развитие листа (Hake, Ori, 2002).

Среди *KNOX*-генов растений наиболее детально исследована большая группа, участвующая в регуляции деятельности апикальной меристемы побегов и в развитии листьев: *KNI* и *RSI (rough sheath 1)* кукурузы; *KNAT1 (KNOTTED-like for Arabidopsis thaliana 1)*, *KNAT2 (KNOTTED-like for Arabidopsis thaliana 2)* и *STM (shoot meristemless)* арабидопсиса; *HvKNOX3 (Hordeum vulgare KNOX3)* ячменя и *OSHI (Oryza sativa HOMEOBOX1)* риса (Williams, 1998; Scofield et al., 2007). Гены *KNI*, *STM* и их функциональные аналоги отвечают за поддержание деления клеток меристем, репрессируя их дальнейшую дифференцировку. Эти гены экспрессируются в апикальных меристемах побегов, а также во флоральных меристемах.

Гены, содержащие MADS-боксы. Термин «MADS-боксы» образован начальными буквами четырех генов: *MCM1* дрожжей, *AG* арабидопсиса, *DEF* львиного зева и *SRF* млекопитающих. К генам, содержащим MADS-боксы, относятся, в частности, *AG (AGAMOUS)*, *DEF (DEFICIENCE)*, *API (APETALA1)* и *AP3 (APETALA3)*, *TFL1 (TERMINAL FLOWER)*, *PI (PISTILLATA)*. Гены этого типа регулируют флоригенез и определяют судьбу клеток в семяпочке; их экспрессия выявлена в зародыше, корнях и листьях (Bodt et al., 2003; Xu, Kong, 2007). К MADS-боксы-генам относится большинство гомеозисных генов растений, в частности гены идентичности органов цветка. Предполагается, что возникновение новых органов в процессе прогрессивной эволюции растений, например семяпочек и семян, сопровождалось появлением новых подсемейств именно MADS-боксы-генов (Ng, Yanofsky, 2001).

Экспрессия генов-регуляторов развития контролируется рядом внутренних и внешних факторов. К внутренним факторам, влияющим на их активность, относятся гормоны, сахара и некоторые минеральные элементы, к внешним – температура и свет. В регуляции процессов дифференцировки и развития важная роль принадлежит генам, которые содержат промоторы, чувствительные и специфичные к фитогормонам и к таким факторам внешней среды, как свет и температура. В составе промоторов очень многих генов, активность которых регулируется фитогормонами, выявлены транскрипционные элементы, определяющие гормональную специфичность ростовых реакций растений (Медведев, Шарова, 2010).

В настоящее время идентифицированы ключевые гены, которые контролируют процессы эмбриогенеза, старения и фотоморфогенеза, регулируют функционирование апикальных, латеральных и флоральных меристем, отвечают за формирование корня, листьев и сосудов. Наиболее хорошо изучена экспрессия генов, регулирующих развитие цветков. На основе имеющейся в настоящее время генетической информации, математического аппарата и компьютерных программ (Babu et al., 2004; Alvarez-Buylla et al., 2007) стало возможным построение так называемых генетических регуляторных сетей (gene regulatory network – GRN), которые позволяют оценить весь спектр взаимодействий между различными регуляторными генами в процессе дифференцировки клеток и формирования органов растения. Отдельные элементы этих сетей способны на разных этапах развития контролировать несколько процессов. Поэтому мутации, затрагивающие разные участки одного регуляторного гена, могут отличаться своим фенотипическим проявлением.

Транскрипционные факторы

Непосредственный контроль за развитием органов и тканей растения осуществляется *транскрипционными факторами* (ТФ) – белками, которые после перемещения в ядро клетки регулируют транскрипцию, специфически взаимодействуя с ДНК либо с другими белками, которые могут образовывать комплекс белок-ДНК (Latchman, 1997). Эукариотические ТФ обычно состоят из двух функциональных доменов: ДНК-связывающего и активирующего транскрипцию. ДНК-связывающий домен отвечает за связывание ТФ с нуклеотидной последовательностью-мишенью, тогда как активирующий домен ТФ принимает участие в белок-белковых взаимодействиях с другими белковыми факторами (адаптерами, активаторами, вспомогательными белками). Некоторые ТФ обладают энзиматической активностью и способны осуществлять ферментативные модификации белковых факторов и ДНК. ТФ обеспечивают снижение (репрессоры) или повышение (активаторы) константы связывания РНК-полимеразы с регуляторными последовательностями регулируемого гена. Именно ТФ отвечают за селективность и специфичность генной регуляции в различных клетках и тканях растительного организма. В процессе клеточной дифференцировки именно появление нового ТФ служит сигналом для активации (или подавления) транскрипции генов на определенной стадии морфогенеза и появления необходимых генных продуктов (Lobe, 1992).

В растениях определены практически все типы транскрипционных факторов, которые функционируют у животных и дрожжей. У арабидопсиса установлены более 1800 белков-регуляторов транскрипции, которые обычно классифицируют по строению ДНК-связывающих доменов (Riechmann, 2002; Guo et al., 2008; Pérez-Rodríguez et al., 2010).

Гомеодоменсодержащие белки. Характерной особенностью этого семейства ТФ является наличие последовательности из 60 аминокислотных остатков, которую называют гомеодоменом (homeodomain, HD). Гомеодомен способен распознавать небольшие нуклеотидные последовательности (например, TCCT, GATC и др.) и контролировать, таким образом, экспрессию определенных генов (Chan et al., 1998; Smith et al., 2002). Гомеодоменсодержащие белки растений регулируют функционирование апикальной меристемы побегов, формирование листа, стебля и сосудов, развитие корня, программированную гибель клеток, процесс избегания тени (Hake, Ogi, 2002).

У арабидопсиса выявлено около 90 белков этого типа. К ним относятся, в частности, ATHB-2 (*Arabidopsis thaliana* HOMEBOX-2), ATHB-8, ATHB-13, BEL1 (BELL1), GL2 (GLABRA2), KNAT1, LD (LUMINIDEPENDENT), PHB (PHABULOSA), PHV (PHAVOLUTA), STM (SHOOT MERISTEMLESS). Помимо гомеодомена эти белки могут содержать лейциновую молнию (leucine zipper), Zn- и PHD-пальцы (fingers), которые обеспечивают возможность связывания с ДНК. В состав гомеодоменсодержащих белков могут также входить домены (ELK, MEINOX), принимающие участие в белок-белковых взаимодействиях. У некоторых белков в дополнение к гомеодомену и лейциновой молнии имеется также стеролсвязывающий домен START (steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain). Выделяют 6 классов гомеодоменсодержащих белков: HD-ZIP (homeodomain-leucine zipper), HD-PHD (homeodomain associated to a finger domain and leucine zipper), WUS (WUSCHEL), HD-KNOX (homeodomain-KNOTTED related), HD-BELL (homeodomain-bell domain) и HD-ZF (homeodomain-zinc finger) (Riechmann, 2002; Ariel et al., 2007).

MADS-белки. Мишенями MADS-белков служат гены, в промоторной области которых имеется специфическая 10-нуклеотидная последовательность – CC(AT)₆GG, называемая CArG-боксом. В составе всех MADS-белков имеется специфический, состоящий из 56 аминокислот, ДНК-связывающий домен, который обеспечивает распознавание этой последовательности (Riechmann, Meyerowitz, 1997; Folter, Angenent, 2006; Xu, Kong, 2007). MADS-белки способны формировать гетеродимеры, которые различаются по способности связываться с ДНК и по транскрипционной активности (Riechmann et al., 1996; Honma, Goto, 2001). Более чем у половины MADS-белков имеется К-домен (keratin-like), который обеспечивает белок-белковые взаимодействия и возможность для димеризации.

Это семейство транскрипционных факторов включает более 100 белков, к которым относятся AGAMOUS (AG), APETALA1 (AP1), APETALA3 (AP3), PISTILLATA (PL), CAL (CAULIFLOWER), FLC (FLOWERING LOCUS C), FUL (FRUITFULL), SEP1 (SEPALLATA1), SEP2 (SEPALLATA2), SEP3 (SEPALLATA3), SHP1 (SHATTER PROOF1), SHP2 (SHATTER PROOF2), SOC1 (SUPPRESSOR OF CONSTANTS OVEREXPRESSION), SVP (SHORT VEGETATIVE PHASE). MADS-белки регулируют формирование цветков и плодов, принимают участие в регуляции развития корня и семян, некоторые из них способны контролировать гомеозисные процессы.

AP2/ERF (APETALA2/ethylene response factor) семейство транскрипционных факторов включает около 150 белков, которые участвуют в регуляции развития цветков и семян, а также в передаче этиленового сигнала (Wessler, 2005). ДНК-связывающий участок этих белков, называемый AP-доменом, содержит два повтора из 68 аминокислотных остатков (Feng et al., 2005). Именно AP-домен

способен распознавать нуклеотидную последовательность GCC-бокс в промоторах генов, контролируемых AP2/ERF-белками. К генам, которые кодируют этот тип ТФ, относятся *AP2* (*APETALA2*), *ANT* (*AINTEGUMENTA*) и *ERFs* (*ethylene response factors*).

MYB-белки (*myeloblastosis*) принадлежат к самому многочисленному типу ТФ растений (Martin, Paz-Ages, 1997; Chen et al., 2006). Это семейство ТФ включает около 200 белков, контролирующих такие процессы, как развитие корня, паттернирование листа, формирование трихом, клеточный цикл, циркадные ритмы, передачу фитохромного сигнала. ДНК-связывающий домен MYB-белков содержит от одного до трех повторов из приблизительно 50 аминокислот. Этот тип ТФ специфически взаимодействует с генами, содержащими (C/T)AAC(G/T)G-нуклеотидные последовательности. В MYB-семейство транскрипционных факторов входят белки ALP (*altered phloem development*), AS1 (*asymmetric leaves 1*), AtMYB2, AtMYB4, CCA (*circadian clock associated*), CPC (*CAPRICE*), LHY (*late elongated hypocotyl*), TT2 (*transparent testa 2*), WER (*WEREWOLF*), GL1 (*GLABRA1*).

bHLH-белки (*basic helix-loop-helix*) относятся к транскрипционным факторам, имеющим основной ДНК-связывающий домен типа «спираль-петля-спираль». Их ДНК-связывающий участок из 9-11 положительно заряженных аминокислот обеспечивает распознавание специфической нуклеотидной последовательности, называемой E-боксом, в то время как HLH-домен обеспечивает возможность для гомо- и гетеродимеризации белка и взаимодействие с ДНК (Heim et al., 2003). В это семейство ТФ входят около 140 белков, включая такие белки арабидопсиса, как GL3 (*GLABRA3*), SPT (*SPATULA*) и TT8 (*transparent testa 8*). Белки bHLH участвуют в регуляции развития корней, трихом и плодоло-

стиков, в передаче фитохромного сигнала, а также в формировании устьиц (Serna, 2007).

bZIP-белки (*basic leucine zipper*) – семейство транскрипционных факторов с основным ДНК-связывающим доменом типа «лейциновая застежка-молния». В этом домене остатки лейцина расположены через каждые шесть аминокислотных остатков на равном расстоянии друг от друга и оказываются на одной стороне α -спирали через каждые два витка. Такие домены не связываются с ДНК, но обеспечивают димеризацию содержащих их транскрипционных факторов путем взаимопроникновения лейциновых α -спиралей, которые переплетаются друг с другом, как в застежке-молнии. В результате в димере появляются две правильно расположенные друг относительно друга полипептидные цепи, составленные преимущественно из основных аминокислотных остатков, которые образуют ДНК-связывающий центр фактора транскрипции. Этот домен обеспечивает специфическое связывание с такими нуклеотидными последовательностями, как CCACGTCA, CCA-CGTGG и TGACGTAА (Foster et al., 1994). bZIP-белки участвуют в регуляции ответных реакций растений на АБК и гиббереллины, контролируют синтез гиббереллинов, фотоморфогенез, развитие цветка и листа. В растениях арабидопсиса выявлено около 80 bZIP-белков, например ABI5 (*ABA-insensitive 5*) и HY5 (*long hypocotyls 5*).

NAC-белки (*NAM, ATAF1, 2, CUP2*) контролируют развитие меристем и формирование органов, а также участвуют в передаче ауксинового сигнала (Xie et al., 2000; Olsen et al., 2005). К NAC-типу относятся ТФ ANAC (*Arabidopsis NAC*), NAM (*no apical meristem*), CUP (*CUPULIFORMIS*), CUC1 (*CUP-shaped cotyledon 1*), CUC2 (*CUP-shaped cotyledon 2*) и CUC3 (*CUP-shaped cotyledon 3*), VND (*vascular-related NAC-domain*). Регуляция уровня

НАС-белков может осуществляться двумя путями: 1) убиквитин-зависимым протеолизом, 2) микроРНК-зависимым расщеплением их мРНК.

ARF-семейство (auxin response factor) транскрипционных факторов включает более 20 белков, участвующих в передаче ауксинового сигнала, эмбриогенезе, регуляции формирования цветков и сосудов (Guilfoyle, Hagen, 2007). Все ARF на N-конце молекулы содержат ДНК-связывающий домен (DBD, DNA-binding domain). Ряд ARF содержат активирующий домен (AD, activation domain), в составе других имеется репрессирующий домен (RD, repression domain). С-конец большинства ARF включает два домена (III и IV) для димеризации (их также называют CTD-домены – C-terminal domains). ARF-белки специфически связываются с TGTCTC-последовательностями ауксин-регулируемых генов и функционируют вместе с репрессором этих генов Aux/IAA (Auxin/IAA).

C2H2(Zn)-белки относятся к транскрипционным факторам, содержащим «цинковые пальцы». Они отвечают за процессы эмбриогенеза, регулируют развитие цветков, побегов и семян, контролируют время цветения и формирование клубеньков (Takatsujii, 1999). К этому семейству ТФ, которое насчитывает более сотни белков, принадлежат EMF2 (embryonic flower 2), FIS2 (fertilization independent seed 2), RHL41 (roothairless 41), SUP (SUPERMAN), VRN2 (VERNALIZATION2).

GRAS-семейство ТФ включает более 30 белков, участвующих в регуляции развития корня и побегов, в ответных реакциях на гиббереллины, в передаче фитохромного сигнала (Pysh et al., 1999; Richards et al., 2000; Bolle, 2004). К ним относятся такие белки, как GAI (gibberellic acid insensitive), PAT1 (phytochrome A signal transduction), RGA1 (repressor of GA1), SCR (SCARECROW), SHR (short root).

GARP семейство транскрипционных факторов включает более 50 белков (Riechmann, 2002), которые участвуют в передаче цитокининового сигнала (например, ARR1 и ARR2 – Arabidopsis response regulator) и формировании дорзо-вентральной симметрии листа (например, KAN1 и KAN2 – KANADY). Белки ARR В-типа представляют собой связывающиеся с ДНК и локализованные в ядре факторы транскрипции, которые под действием цитокининов фосфорилируются и активируют (или блокируют) транскрипцию ряда генов первичного ответа (Heyl, Schmullig, 2003; Ferreira, Kieber, 2005). Некоторые из этих генов кодируют белки-регуляторы ответа типа А (ARR А). Белки ARR В-типа вовлечены в ранние этапы передачи цитокининового сигнала и имеют на С-конце ДНК-связывающий домен GARP (Golden2, ARR, Psr1), который имеет гомологию с MYB-семейством факторов транскрипции. Белки ARR В-типа распознают на ДНК последовательность нуклеотидов 5' – (A/G)GAT(T/C) – 3' (Hosoda et al., 2002),

CCAAT-семейство факторов транскрипции специфически связываются с CCAAT-боксом за счет ДНК-связывающего домена bZIP-типа. Они участвуют в регуляции эмбриогенеза и включают более 30 белков, к которым относится, например, LEC1 (leafy cotyledon 1) (Lotan et al., 1998).

C2C2(Zn)-белки отвечают за процессы прорастания семян, циркадные ритмы, регуляцию времени цветения, дорзо-вентральную симметрию (Riechmann, 2002). К C2C2(Zn)-семейству транскрипционных факторов принадлежат CO-подобные белки (CONSTANS-like), а также белки YABBY-типа, в частности, CRC (crabs claw), FIL (filamentous flower) и INO (inner no outer).

ABI3/VPI-белки контролируют эмбриогенез, развитие и прорастание семени, пере-

дачу сигнала от АБК, дифференцировку пластид (Stone et al., 2001). Этот тип ТФ включает ABI3 (ABA-INSENSITIVES3), FUS3 (FUSCA3), LEC2 (LEAFY COTYLEDON2), VP1 (VIVIPAROUS1).

Белки WRKY, относящиеся к классу белков, содержащих «цинковые пальцы», сходны с этилен-зависимыми факторами транскрипции, например с ERF1 (ethylene response factor 1). Большинство этих белков содержат так называемые WRKY-домены, состоящие из 60 аминокислотных остатков, в которые входит очень консервативная последовательность аминокислот – WRKYGQK на N-конце молекулы. Этот тип регуляторов транскрипции имеет важное значение в устойчивости растений к патогенам и абиотическим стрессовым воздействиям, которая формируется с участием таких гормонов, как салициловая, жасмоновая и абсцизовая кислоты. Помимо этого WRKY-гены участвуют в регуляции развития и прорастания семени, контролируемом гиббереллинами, а также процесса старения (Eulgem et al., 2000; Ulker, Somssich, 2004). В растениях риса выявлено около сотни генов, кодирующих WRKY-факторы транскрипции (Ross et al., 2007).

Эпигенетические механизмы морфогенеза растений

Активность генов зависит не только от факторов транскрипции, специфичных для данного гена, но также от целого комплекса факторов, способных прямо или косвенно влиять на структуру хроматина (Lusser, 2002; Exner, Hennig, 2008). Поэтому у эукариотов важные элементы развития находятся также и под эпигенетическим контролем. *Эпигенетика* изучает стабильные, передаваемые в длинном ряду клеточных делений и даже в ряду поколений изменения уровня экспрессии генов, не связанные с изменениями последо-

вательности нуклеотидов в ДНК (Медведев, Шарова, 2010). Впервые же термин «эпигенетика» был введен выдающимся английским эмбриологом и генетиком Конрадом Уоддингтоном (Waddington, 1957) для описания наблюдающихся в ходе развития изменений экспрессии генов.

Один из наиболее известных эпигенетических феноменов, описанный на кукурузе еще в середине прошлого века Барбарой МакКлинток (McClintock, 1950), – это циклическая активность транспозонов. Он состоит в том, что в ряду поколений происходит периодическое освобождение транспозонов от гетерохроматинового подавления их активности. Ярким примером эпигенетической регуляции индивидуального развития растений является также репрессия у арабидопсиса гена, который кодирует ингибирующий цветение фактор транскрипции FLC (flowering locus C) (Bastow et al., 2004; Dennis, Peacock, 2007). Репрессия этого гена происходит в процессе вернализации, или яровизации, которая необходима многим растениям умеренных широт для индукции цветения. Вернализация достигается воздействием на растения в течение нескольких дней, недель или месяцев низкой положительной температуры на той или иной стадии их вегетативного развития. Например, цветение арабидопсиса значительно ускоряется, если замоченные семена в течение двух-трех дней выдерживать при 2 °С. Происходящая в этих условиях репрессия ингибирующего цветение гена *FLC* сохраняется на всю жизнь растения независимо от того, при какой температуре оно в дальнейшем вырастает.

Эпигенетический статус организма определяется характером и уровнем метилирования ДНК, посттрансляционными модификациями гистонов, присутствием изоформ гистонов и характером укладки хроматина

(Vaillant, Paszkowski, 2007; Exner, Hennig, 2008). Наиболее хорошо описанным эпигенетическим механизмом регуляции является метилирование ДНК (Ванюшин, 2009).

Модификация ДНК. Эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов в основном реализуются посредством стойких модификаций хроматина в тех участках, где эти гены расположены. Эпигенетическая регуляция активности генов главным образом проявляется в их долгосрочной репрессии. Известно значительно меньше примеров стойкого повышения уровня генной экспрессии. Поэтому наиболее изучены именно механизмы эпигенетической репрессии, а не активации генов. Транскрипционное подавление генов достигается ремоделированием хроматина, метилированием ДНК и метилированием гистонов (Lusser, 2002; Vaillant, Paszkowski, 2007; Exner, Hennig, 2008).

Хроматин-ремоделирующий комплекс участвует в АТФ-зависимом скольжении гистоновых октамеров, составляющих ядро нуклеосом, вдоль цепи ДНК. Таким образом, достигается реорганизация нуклеосомной структуры хроматина. Нарушение работы хроматин-ремоделирующего комплекса у *ddm1* (decreased DNA methylation 1) и *tom1* (morphheus' molecule 1) мутантов арабидопсиса по двум АТФазным субъединицам (MOM1 и DDM1) (Vaillant et al., 2006; Exner, Hennig, 2008) приводит к нарушению образования хромоцентров, к реактивации заглушенных транспозонов, ретротранспозонов и трансгенов и, в то же время, к глушению ряда генов, активных у нормальных растений.

Поскольку линкерная ДНК более доступна для транскрипции, чем нуклеосомная, уровень транскрипции многих генов может быть изменен самим фактом перемещения гистоновых октамеров вдоль молекулы ДНК. Однако это не главная причина глушения ге-

нов. Гораздо важнее то, что работа хроматин-ремоделирующего комплекса необходима для дальнейших модификаций хроматина, главной из которых является метилирование ДНК – важнейшая детерминанта эпигенетики (Zilberman, 2008). Поэтому у *ddm1* мутантов в целом резко снижен уровень метилирования ДНК, но при этом метилируются и репрессируются некоторые гены, неметилированные и активные у нормальных растений.

Метилированию подвергаются остатки цитозина в положении 5, что приводит к глушению транскрипции в зоне метилированного промотора (Finnegan et al., 1998, Ванюшин, 2009). У животных подобная модификация может происходить только в CG-последовательности. У растений 5-метилцитозин обнаружен также в CNG-последовательностях, где N – любой нуклеотид, и в CXX-последовательностях, где X – любой нуклеотид, кроме гуанозинфосфата.

Наиболее густому метилированию подвергаются частые повторы, причем уровень их метилирования коррелирует со степенью их репрессии. Замолкание трансгенов также связано с их густым метилированием по цитозину. Есть ряд примеров метилирования эндогенных генов, кодирующих белки, включая факторы транскрипции. Например, геномный импринтинг часто достигается посредством избирательного метилирования или деметилирования генов. Обычно репрессированные в вегетативных тканях арабидопсиса гены *MEA* и *FWA* метилированы в области промоторов. Реактивация этих генов в эндосперме, где экспрессируются гены, имеющие материнское происхождение, связана с их деметилированием в женском гаметофите перед оплодотворением.

Гены *PHABULOSA* и *PHAVOLUTA*, кодирующие факторы транскрипции класса HD-ZIP, также содержат 5-метилцитозин.

Эти гены участвуют в становлении дорзовентральной симметрии листа. Их экспрессия подавляется только на абаксиальной стороне листового примordia (будущей нижней стороне листа).

У арабидопсиса известно десять ДНК-метилтрансфераз, среди которых наиболее изучена MET1, метилирующая цитозин в CG-последовательности, и уникальная для растений СМТ3, метилирующая цитозин в других положениях. Метилирование ДНК довольно устойчивая модификация, и деметилирование происходит редко. Оно достигается при участии ДНК-гликозилаз, удаляющих метилированный цитозин. Активность MET1 тесно связана с функционированием хроматин-ремоделлирующего комплекса и нарушена у мутанта *ddm1*. Активность СМТ3 зависит от метилирования гистонов, представляющего собой еще один очень важный эпигенетический механизм регуляции экспрессии генов.

Модификация гистонов. Еще одним эпигенетическим механизмом, позволяющим контролировать экспрессию генов, являются химические модификации гистонов. Активность гистонов в растениях, как и у животных, может модифицироваться путем их метилирования, ацетилирования, фосфорилирования, гликозилирования и убиквитинирования с последующим протеолизом (Lusser, 2002; Pfluger, Wagner, 2007).

Гистоны в составе нуклеосомы имеют обращенные наружу N-концы полипептидов, которые могут подвергаться многочисленным модификациям. Эти модификации очень сильно влияют на уровень транскрипции генов, находящихся в контакте с модифицированными гистонами. Некоторые из этих модификаций, такие как фосфорилирование и, в меньшей степени, ацетилирование, несут динамичный характер. Они могут довольно быстро возникать и исчезать. Наиболее ста-

тичный характер носит метилирование гистонов. Таким образом, метилирование гистонов может рассматриваться как эпигенетическая метка, хотя с помощью специальных гистон-деметилаз оно все-таки может сниматься. Фосфорилированию подвергаются остатки оксиаминокислот: серина (S) и треонина (T). Ацетилирование и метилирование в основном происходят по ε-аминогруппе остатков лизина (K), причем к одному остатку лизина могут присоединяться до трех метильных групп. К остаткам лизина посредством изопептидной связи может также присоединяться белок убиквитин. Кроме того, могут метилироваться некоторые остатки аргинина (R).

На рис.1 представлены модификации, которым подвержены N-концы гистонов (Lusser, 2002). Гистон H3 может обратимо фосфорилироваться по S10 и S28, ацетилироваться по K9, K14, K18 и K23, метилироваться по R2, K4, K9, K14, R17, K18, K23, R26, K27 и K36. Гистон H4 может фосфорилироваться по S1, ацетилироваться по K5, K8, K12, K16 и K20, метилироваться по R3 и K20. Гистон H2A подвержен фосфорилированию по S1, ацетилированию по K5 и K9, убиквитинированию по K119, а H2B может ацетилироваться по K5, K12, K15, K20 и убиквитинироваться по K120.

Разные модификации N-концов гистонов могут влиять друг на друга (Lusser, 2002). Очевидно, что если остаток лизина ацетилирован, то он может быть прометилирован только после деацетилирования. Кроме того, наблюдается влияние друг на друга модификаций, затрагивающих различные сайты гистонов. Например, фосфорилирование H3S10 и метилирование H3K4 подавляют метилирование H3K9. Перечисленные выше модификации по-разному влияют на экспрессию генов. Фосфорилирование и ацетилирование гистонов приводят к активации транскрипции. Эффект этих модификаций объясняется

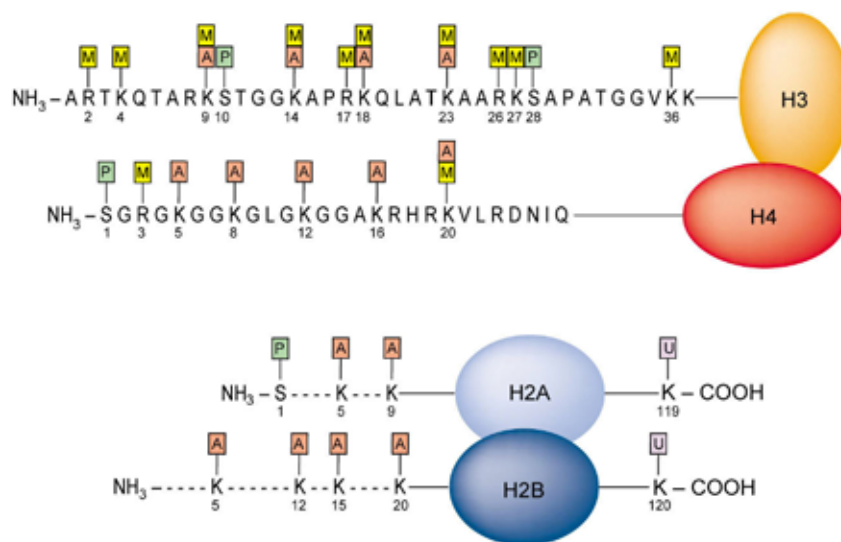


Рис. 1. Модификации N-концевых участков гистонов, входящих в состав нуклеосомы (по: Lusser, 2002): М – метилирование, А – ацетилирование, Р – фосфорилирование, U – убиквитинирование

главным образом тем, что они уменьшают положительный заряд гистонов, благодаря которому гистоны взаимодействуют с кислотой ДНК. Влияние метилирования гистонов на транскрипцию генов зависит от того, где оно происходит. Так, диметилирование по H3K9 (H3K9me²) связано с очень сильным гетерохроматиновым подавлением генов, а ди- и триметилирование по H3K27 (H3K27me² и H3K27me³) – главным образом с репрессией генов, расположенных в эухроматине.

Метилирование H3 по расположенному в четвертом положении остатку лизина (H3K4me²), напротив, приводит к активации генов. Разнонаправленность влияний метилирования гистонов на транскрипцию генов объясняется тем, что метилирование изменяет транскрипцию не само по себе, а привлекая ингибиторы и активаторы транскрипции. Предполагается, что характер метилирования гистонов представляет собой «гистоновый код», который прочитывается другими белками с помощью специальных доменов. Так, подавление транскрипции генов посредством H3K9me² и H3K27me³ модификаций связано с

тем, что эти модификации узнаются белками, имеющими так называемый хромодомен. У арабидопсиса хромодомен обнаружен у метилтрансферазы СМТ3, метилирующей ДНК по цитозину, и у ингибиторного, способствующего плотной упаковке хроматина белка LHP1 (like heterochromatin protein 1).

Многие гистон-метилтрансферазы, контролируемые метилирование гистонов, хорошо изучены. У арабидопсиса их насчитывается 29. К ним относится КУР, которая метилирует H3K9 в ходе образования гетерохроматина. Она работает только в тех участках ДНК, где с помощью MET1 прометилирован цитозин в CG-последовательностях, поэтому у мутантов *met1* резко снижено содержание H3K9me² и H3K9me³. Гистон-метилтрансферазы, относящиеся к Trithorax группе (trx-G), вызывают очень стойкое метилирование H3K4, которое приводит к длительной активации генов эпигенетического характера.

Важную роль в длительной репрессии уникальных последовательностей ДНК в эухроматине играют гистон-метилтрансферазы Polycomb группы (PcG) (Schubert et al., 2005).

С их помощью происходит образование $H3K27me^3$, $H3K27me^2$ и, возможно, $H3K9me^2$. У арабидопсиса к PcG генам относятся *CLF*, *MEA*, *SWN*, *FIE*, *VRN1*, *VRN2*. Мутации в PcG генах вызывают гомеозисные преобразования. Так, мутанты *clf* и *swn* формируют бесцветную каллусную массу. Очевидно, что избирательное и длительное подавление транскрипции генов с участием PcG гистонметилтрансфераз имеет чрезвычайно важное значение для дифференциации клеток. Действие PcG в основном направлено на факторы транскрипции. У растений наиболее яркой демонстрацией активности PcG белков может служить репрессия MADS-доменсодержащих факторов транскрипции *FLC* и *AGAMOUS*. Метилирование гистонов ($H3K27me^2$, $H3K27me^3$, $H3K9me^2$) в окружении гена *FLC*, кодирующего ингибитор цветения, происходит в процессе вернализации с помощью *VRN1* и *VRN2*. В глушении *AGAMOUS*, который экспрессируется только в процессе формирования генеративных частей цветка, участвует *CLF*.

Таким образом, хроматиновая репрессия генов происходит благодаря координированной работе нескольких белковых комплексов, модифицирующих хроматин. При образовании гетерохроматина они предположительно работают в такой последовательности (рис. 2.) Вначале хроматин-ределерирующий комплекс определенным образом размещает нуклеосомы вдоль ДНК (Lusser, 2002). Это помогает MET1 найти доступ к CG сайтам и прометилировать их по цитозину. Затем гистон-деацетилазные комплексы (HDAC), в состав которых входят белки, связывающиеся с метилированными CG сайтами, деацетилируют специфические остатки лизина у H3 и H4, что позволяет гистонметилазе KYP прометилировать H3K9. Сайты $H3K9me^2$, в свою очередь, привлекают содержащие хро-

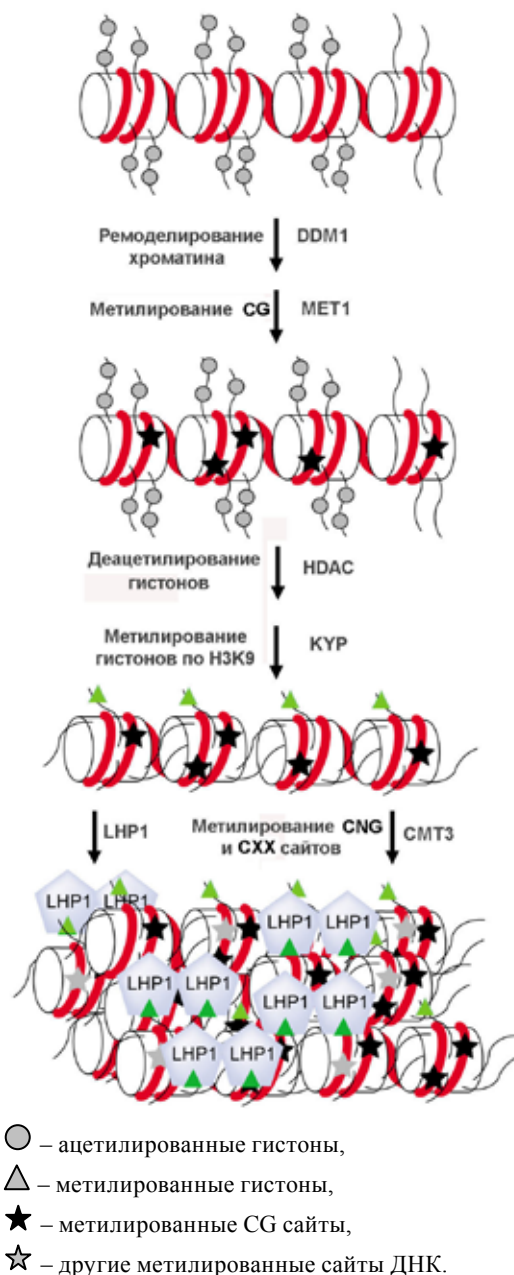


Рис. 2. Образование плотно упакованного, нетранскрибируемого хроматина (по: Lusser, 2002)

модомен ДНК-метилтрансферазу СМТ3 и репрессорный белок LHP1, что приводит к дальнейшему метилированию ДНК и уплотнению хроматина.

Состояние хроматина очень изменяется в ходе развития растений. В целом содержание гетерохроматина возрастает при дифференцировке и формировании органов, а в каллусе и протопластах оно снижается. Однако до сих пор не известны механизмы, посредством которых упаковка ДНК в ядре влияет на развитие растений.

Участие малых РНК в регуляции экспрессии генов

Открытие целого мира малых РНК (small RNAs, sRNAs), регулирующих экспрессию генов, произошло в конце 1990-х гг, а в 2006 г. авторам этого открытия Эндрю Файеру и Крейгу Мелло (Andrew Fire & Craig Mello) была присуждена Нобелевская премия в области физиологии и медицины за работы по изучению РНК-интерференции у нематоды *Caenorhabditis elegans* (РНК-интерференцией называют процесс подавления экспрессии гена (сайленсинг) на стадии транскрипции, трансляции, деаденилирования или деградации мРНК при помощи малых РНК).

При изучении подавления генной экспрессии с помощью антисмысловой РНК у нематоды *Caenorhabditis elegans* Э. Фаером и К. Мелло (Fire et al., 1998) был обнаружен поразительный феномен, который вначале поставил их в тупик. Оказалось, что подавление экспрессии гена можно вызвать не только введением в клетки антисмысловой РНК, но и с помощью смысловой РНК. Но в десятки и сотни раз более эффективным было введение смеси смысловой и антисмысловой РНК, иными словами, введение двухцепочечной РНК.

В дальнейшем выяснилось, что сама по себе двухцепочечная РНК инертна и не спо-

собна к дальнейшему спариванию оснований по Уотсону-Крику. Однако она может выступать триггером РНК-интерференции благодаря тому, что в клетках работает мощный и высокоспецифичный механизм процессинга двухцепочечных РНК с превращением их в высокоактивные короткие одноцепочечные sРНК длиной 21-26 нуклеотидов (Hannon, 2002). Эти sРНК и являются агентами РНК-интерференции, необходимой как для метилирования ДНК и гистонов, так и для устойчивой посттранскрипционной репрессии генов, передаваемой при клеточном делении как метастабильное состояние цитоплазмы. РНК-интерференция обнаружена у животных, растений и грибов и играет важную роль в защите клеток от транспозонов и вирусов, а также в регуляции развития организма. Малые РНК делятся на две большие группы: микроРНК (miRNAs) и малые интерферирующие РНК (short interfering RNAs, siRNAs). Они значительно отличаются друг от друга по своему генезису и по характеру действия (Bonnet et al., 2006).

МикроРНК растений. К микроРНК (miРНК) относятся эндогенные РНК, которые не кодируют белки и играют ключевую роль в подавлении экспрессии генов или путем расщепления транскриптов этих генов, или за счет блокирования трансляции мРНК (Reihart et al., 2002; Palatnik et al., 2003). Таким способом микроРНК могут контролировать уровень экспрессии почти половины известных генов, кодирующих синтез факторов транскрипции. МикроРНК закодированы на собственных генах и транскрибируются с помощью РНК-полимеразы II в длинные, состоящие примерно из одной тысячи нуклеотидов первичные транскрипты (pri-miРНК), которые, подобно кодирующим белки мРНК, кэпированы и полиаденилированы (Vazques, 2006). Первичные транскрипты кодирующих

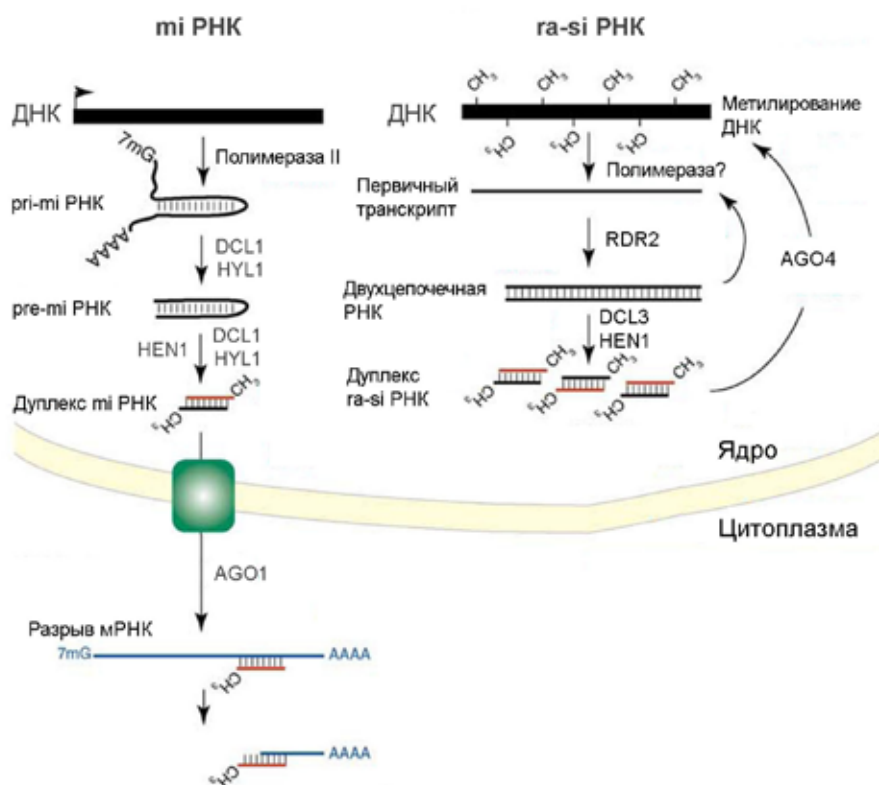


Рис. 3. Процессинг miRNAs и ra-siRNAs и их действие на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях (по: Vazques, 2006, с изменениями)

miРНК генов имеют в своей средней части характерную структуру «шпильки», состоящей из «стебелька» и «головки».

В ядре происходит разрезание pri-miРНК с помощью белка DCL1 (Dicer like 1), содержащего два домена с активностью РНКазы III. Разрезание осуществляется в два этапа. Сначала происходит вырезание из первичного транскрипта «шпильки», включающей обычно более ста нуклеотидов и обозначаемой как pre-miРНК (Bonnet et al., 2006; Vazques, 2006). Затем из области «стебелька» pre-miРНК вырезается короткий двухцепочечный фрагмент длиной 20-24 нуклеотида (рис. 3). Для правильного созревания miРНК кроме DCL1 требуется также белок HYL1 (Hypnastic leaves 1), узнающий двухцепочечные РНК, и белок HEN1, который метилирует 2' ОН-группы 3'-концевых остатков рибозы у двухцепочечных

РНК. Ген *HEN1* (*HUA enhancer 1*) важен для работы гена *HUA1* (*Hua* по-китайски означает цветок), участвующего в формировании тычинок и плодолистиков и таким образом выполняющего совместно с геном *AGAMOUS* функцию *C* в *ABC*-модели идентификации органов цветка (Chen and Meyerowitz, 1999).

Дуплекс miРНК обычно переносится в цитоплазму и вступает во взаимодействие с белком AGO1 (Argonaute), обладающим активностью РНКазы H (Vaucheret, 2008). Эндонуклеазы семейства Argonaute являются каталитическим элементом комплекса белков под названием RISC (RNA-induced silencing complex), с которым происходит связывание miРНК. Для взаимодействия дуплекса miРНК с AGO1 важны фосфодиэфирные связи, которыми соединены на обоих концах дуплекса 5'-концевой нуклеотид одной цепи и второй с

3'-конца нуклеотид другой цепи. Белок AGO1 гидролизует одну из цепей дуплекса и прочно соединяется с другой цепью. В комплексе с AGO1 зрелая одноцепочечная miРНК способна вызывать избирательный гидролиз мРНК, а в комплексе с AGO4 – влиять на метилирование хроматина в комплементарных ей участках ДНК. Всего у арабидопсиса имеются десять гомологичных AGO1 белков.

Малые интерферирующие РНК растений. Малые интерферирующие РНК (siРНК) способны осуществлять направленную деградацию или блокировать трансляцию РНК определенной последовательности и участвовать, таким образом, в регуляции экспрессии генов и защите генома от вирусов (Mlotshwa et al., 2008) и транспозонов (Lisch, 2009). Впервые siРНК как фактор глушения генов были описаны группой Дэвида Vaulcombe у растительных организмов (Hamilton, Vaulcombe, 1999).

В отличие от miРНК непосредственными предшественниками siРНК являются полностью комплементарные длинные двухцепочечные РНК, которые в большинстве случаев образуются в результате активности РНК-зависимых РНК-полимераз (RDR), направленной на одноцепочечные РНК экзогенного и эндогенного происхождения. Нормальные мРНК недоступны для РНК-зависимых РНК-полимераз благодаря их кэпированию и полиаденилированию. РНК-зависимые РНК-полимеразы могут собирать вторую цепь на одноцепочечной РНК виридов, на продуктах транскрипции вирусной ДНК и трансгенов. Эндогенными субстратами RDR могут быть транскрипты повторов (Vazques, 2006). В результате процессинга двухцепочечных РНК, собранных на транскриптах повторов, возникают *ra*-siРНК (*repeat-associated siRNAs*). Вторая цепь может собираться также на транскриптах особых генов, кодирующих *ta*-siРНК

(*trans-acting siRNAs*). Кроме того, двухцепочечные РНК могут появляться в клетках и без участия РНК-зависимых РНК-полимераз, а благодаря тому, что в геноме имеются до 20 % генов, последовательности которых частично перекрываются в антисмысловой ориентации. В результате транскрипты этих генов частично комплементарны друг другу и спариваются. Малые siРНК, образующиеся таким путем, обозначаются как *nat*-siРНК (*natural antisense transcript derived siRNAs*).

Процессинг siРНК (рис. 3) сходен с процессингом miРНК, и в нем участвуют те же белки или их гомологи: DCL2, DCL3, HYL1, HEN1, AGO1, AGO4 и другие. Двухцепочечные РНК разрезаются на 21-26-нуклеотидные двухцепочечные фрагменты, которые на обоих концах имеют фосфодиэфирную связь между 5'-концевым нуклеотидом и вторым с 3'-конца нуклеотидом комплементарной цепи, а также метилированные 2'-ОН-группы 3'-концевых остатков рибозы. Далее дуплексы siРНК взаимодействуют с AGO, в результате чего одна цепь дуплекса гидролизует, а вторая остается прочно связанной с AGO1/4 и может служить агентом РНК-интерференции.

РНК-интерференция, осуществляемая с помощью малых РНК, может вызвать избирательную репрессию генов как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровнях, причем РНК-зависимая репрессия генов часто носит длительный характер (Vazques, 2006). Накопилось немало фактов, доказывающих, что метилирование эндогенных генов и образование гетерохроматина направляется малыми РНК. Так, у мутантов по *AGO1* и *DCL1* нарушен процесс образования гетерохроматина. У арабидопсиса метилирование ретротранспозона *AtSN1* происходит с помощью определенной *ra*-siРНК и нарушается у мутанта по *AGO4*. Ген арабидопсиса *FWA*, метилированный в природных условиях, по-

сле его реинтродукции в растения путем бактериальной трансформации реметируется при участии siРНК, и этот процесс подавляется при нарушении функций DCL3 и РНК-зависимой РНК-полимеразы. Метилирование ДНК генов *PHAVOLUTA* и *PHABULOSA* у арабидопсиса происходит при участии miR165 и miR166. Механизм, посредством которого малые РНК вызывают метилирование ДНК и глушение транскрипции генов, остается малоизученным. Возможно, РНК-зависимое метилирование ДНК опосредовано РНК-зависимым метилированием гистонов. Неясно также, взаимодействуют ли малые РНК непосредственно с комплементарными им участками ДНК или с их нарождающимися транскриптами.

Значительно лучше изучен механизм РНК-зависимой репрессии генов на пост-транскрипционном уровне. Она может осуществляться посредством гидролиза мРНК, имеющих комплементарные малым РНК последовательности. Этот процесс происходит следующим образом. Малая РНК в комплексе с AGO1 садится на комплементарный ей участок мРНК и таким образом создает фрагмент двухцепочечной РНК (Vazques, 2006). Затем благодаря РНКазной активности AGO, направленной на двухцепочечную РНК, происходит разрыв мРНК в середине комплементарного участка (между 10-м и 11-м нуклеотидами sРНК).

Содержание siРНК в клетках значительно выше, чем miРНК. Главная роль siРНК состоит в защите от чужеродных РНК и ДНК. Устойчивость растений к вирусам в большинстве случаев связана не с развитием реакции сверхчувствительности, но с высокоспецифичным разрывом вирусной РНК при участии siРНК (Mlotshwa et al., 2008). Эти малые РНК являются также основными агентами замолкания трансгенов. Кроме того, siРНК, как

уже отмечалось, участвуют в репрессии повторов ДНК, в первую очередь транспозонов и ретротранспозонов (Lisch, 2009). Действие siРНК, за исключением ta-siРНК, направлено на те последовательности, на которых они синтезированы, что существенно отличает их от miРНК, синтезирующихся на собственных генах.

Роль малых РНК в регуляции развития растений

В каждом растении, по-видимому, содержатся сотни различных микроРНК (Bonnet et al., 2006; Barakat et al., 2007). Их строение эволюционно консервативно, и наблюдается высокая степень гомологии miРНК цветковых с miРНК хвойных, папоротников и мхов. МикроРНК могут передаваться по симпласту от клетки к клетке, а также передвигаться по флоэме на большие расстояния. Малые РНК жизненно необходимы растениям. Об этом свидетельствуют летальные эффекты нулевых мутаций арабидопсиса по *AGO1* и *DCL1* – генам, участвующим в созревании малых РНК. Гибель зародышей происходит уже на стадии глобулы (Vazques, 2006).

У арабидопсиса почти 70 % всех известных микро-РНК имеют своей мишенью факторы транскрипции. Поэтому микроРНК, как и факторы транскрипции, по-видимому, также могут выполнять функции «переключателей» программ развития клеток (Bonnet et al., 2006). Как только в клетке синтезируются микроРНК (вызывающие деградацию соответствующих мРНК), это приводит к изменению судьбы данной клеточной линии. Хорошо изучена репрессия посредством семейства miR165 и miR166 генов *PHABULOSA*, *PHAVOLUTA* и *REVOLUTA*, кодирующих факторы транскрипции семейства HD-ZIP, которые важны для становления дорзовентральной симметрии листа. Репрессия дости-

гается разрывом мРНК. В генах *PHABULOSA* и *PHAVOLUTA* кроме того происходит метилирование ДНК. Другим ярким примером участия микро-РНК в регуляции развития растений может служить репрессия посредством miR172 флорального гена *APETALA2* в примордиях плодолистиков и тычинок. МикроРНК принимают участие в регуляции эмбриогенеза и формирования семени, морфогенеза листа и корня, пролиферации клеток в меристемах и формирования органов цветка, трансдукции гормональных сигналов (Malloy, Vaucheret, 2004; Chuck et al., 2009).

В настоящее время очевидно, что малые РНК (sРНК) выполняют множество ключевых функций у эукариотических организмов, и поэтому описывать работу генома простой схемой «ДНК – РНК – белок» уже невозможно. Процесс РНК-интерференции играет важную роль не только в защите клеток от транс-

позонов и вирусов, но также в регуляции процессов развития и ряда других функций растительных организмов. Если учесть, что, например, у арабидопсиса выявлено около 25000 генов, кодирующих белки, и что каждая микроРНК влияет на работу нескольких из них, то выходит, что под контроль микроРНК попадает около четверти растительного генома. Система регуляции работы генома усложняется еще и тем, что малые РНК влияют не только на мРНК, но и друг на друга. Однако несмотря на внушительный объем знаний, полученный в течение нескольких лет после открытия sРНК, многие аспекты их формирования и функций пока еще остаются неясными. Не изучена эволюция микроРНК у эукариот. Требуется дальнейшего анализа вопрос об универсальности малых РНК и sРНК-зависимых процессов у эукариот и внутри царства растительных организмов.

Работа поддержана грантом РФФИ 08-04-00566.

Список литературы

1. Ванюшин Б.Ф. (2009) Метилирование ДНК у растений. Механизмы и биологическая роль. М.: Наука, 77 с.
2. Медведев С.С., Шарова Е.И. (2010) Биология развития растений. Т. 1. Начала биологии развития растений. Фитогормоны. СПб.: Изд-во СПбУ, 247 с.
3. Abbott M.K., Kaufman T.C. (1986) The relationship between the functional complexity and the molecular organization of the *Antennapedia* locus of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 114: 919-942.
4. Alvarez-Buylla E.R., Benitez M., Davila E.B., Chaos A., Espinosa-Soto C., Padilla-Longoria P. (2007) Gene regulatory network models for plant development. *Current Opinion in Plant Biology* 10:83–91.
5. Ariel F.D., Manavella P.A., Carlos A., Dezar C.A., Chan R.L. (2007) The true story of the HD-Zip family. *Trends in Plant Science* 12: 419-426
6. Babu M.M., Luscombe N.M., Aravind L., Gerstein G., Sarah A., Teichmann S.A. (2004) Structure and evolution of transcriptional regulatory networks. *Current Opinion in Structural Biology* 14: 283–291.
7. Barakat A., Wall K., Leebens-Mack J., Wang Y.J., Carlson J.E., de Pamphilis C.W. (2007) Large-scale identification of microRNA from basal eudicot (*Eschscholzia californica*) and conservation in flowering plants. *The Plant Journal* 51: 991-1003.

8. Bastow R., Mylne J.S., Lister C., Lippman Z., Martienssen R.A., Dean C. (2004) Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature* 427: 164-167.
9. de Bodt S., Raes J., van de Peer Y., Theisen G. (2003) And then there were many: MADS goes genomic. *Trends in Plant Science* 8: 475-483.
10. Bolle C. (2004) The role of GRAS proteins in plant signal transduction and development. *Planta* 218: 683-692.
11. Bonnet E., van de Peer Y., Rouze P. (2006) The small RNA world of plants. *New Phytologist* 171: 451-468.
12. Chan R.L., Gago G.M., Palena C.M., Gonzalez D.H. (1998) Homeoboxes in plant development. *Biochimica et Biophysica Acta* 1442: 1-19.
13. Chen X., Meyerowitz E.M. (1999) HUA1 and HUA2 are two members of the floral homeotic AGAMOUS pathway. *Molecular Cell* 3: 349-360.
14. Chen Y.H., Yang X.Y., He K., Liu M.H., Li J.G., Gao Z.F., Lin Z.Q., Zhang Y.F., Wang X.X., Qiu X.M., Shen Y.P., Zhang L., Deng X.H., Luo J.C., Deng X.W., Chen Z.L., Gu H.Y., Qu L.J. (2006) The MYB transcription factor superfamily of *Arabidopsis*: expression analysis and phylogenetic comparison with the rice MYB family. *Plant Molecular Biology* 60: 107-124.
15. Chuck G., Candela H., Hake S. (2009) Big impacts by small RNAs in plant development. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 81-86.
16. Coen E.S. (1991) The role of homeotic genes in flower development and evolution. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 241-279.
17. Dennis E.S., Peacock W.J. (2007) Epigenetic regulation of flowering. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 520-527.
18. Eulgem Th., Rushton P.J., Robatzek S., Somssich I. (2000) The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends in Plant Science* 5: 199-206.
19. Exner V., Hennig L. (2008) Chromatin rearrangements in development. *Current Opinion in Plant Biology* 11: 64-69.
20. Feng J.X., Liu D., Pan Y., Gong W., Ma L.G., Luo J.C., Deng X.W., Zhu Y.X. (2005) An annotation update via cDNA sequence analysis and comprehensive profiling of developmental, hormonal or environmental responsiveness of the Arabidopsis AP2/EREBP transcription factor gene family. *Plant Molecular Biology* 59: 853-868.
21. Ferreira F.J., Kieber J.J. (2005) Cytokinin signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 518-525.
22. Finnegan E.J., Genger R.K., Peacock W.J., Dennis E.S. (1998) DNA methylation in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 223-247.
23. Fire A., Xu S., Montgomery M.K., Kostas S.A., Driver S.E., Mello C.C. (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391:806-811.
24. de Folter S., Angenent G.C. (2006) *trans* meets *cis* in MADS science. *Trends in Plant Science* 11: 224-231.
25. Foster R., Izawa T., Chua N.A. (1994) Plant bZIP proteins gather at ACGT elements. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal (FASEB J.)* 8: 192-200.
26. Guilfoyle T.J., Hagen G. (2007) Auxin response factor. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 453-460.

27. Guo A.Y., Chen X., Gao G., Zhang H., Zhu Q.H., Liu X.C., Zhong Y.F., Gu X., He K., Luo J. (2008) Plant TFDB: a comprehensive plant transcription factor database. *Nucleic Acids Research* 36: D966–D969.
28. Hake S., Ori N. (2002) Plant morphogenesis. *Nature Genetics* 31: 121-122.
29. Hamilton A., Baulcombe D. (1999) A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science* 286 (5441): 950–952.
30. Hannon G.J. (2002) RNA interference. *Nature* 418: 244-251.
31. Heim M.A., Jakoby M., Werber M., Martin C., Weisshaar B., Bailey P.C. (2003) The basic helix-loop-helix transcription factor family in plants: a genome-wide study of protein structure and functional diversity. *Molecular Biology and Evolution* 20: 735-747.
32. Heyl A., Schumling Th. (2003) Cytokinin signal perception and transduction. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 480–488.
33. Honma T., Goto K. (2001) Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs. *Nature* 409: 525-529.
34. Hosoda K., Imamura A., Katoh E., Hatta T., Tachiki M., Yamada H., Mizuno T., Yamazaki T. (2002) Molecular structure of the GARP family of plant Myb-related DNA binding motifs of the *Arabidopsis* response regulators. *Plant Cell* 14: 2015-2029.
35. Latchman D.S. (1997) Transcription factors: an overview. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 29: 1305–1312.
36. Lisch D. (2009) Epigenetic regulation of transposable elements in plants. *Annual Review of Plant Biology* 60: 43–66.
37. Lobe C.G. (1992) Transcription factors and mammalian development. *Current Topics in Developmental Biology* 27: 351–383.
38. Lotan T., Ohto M., Yee R.V., West M.A., Kwong L.W., Yamagishi K., Fischer R.L., Goldberg R.B., Harada J.J. (1998) *Arabidopsis* *LEAFY COTYLEDON1* is sufficient to induce embryo development in vegetative cells. *Cell* 93: 1195-1205.
39. Lusser A. (2002) Acetylated, methylated, remodeled: chromatin states for gene regulation. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 437-443.
40. Mallory A.C., Vaucheret H. (2004) MicroRNAs: something important between the genes. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 120–125.
41. Martin C., Paz-Ares J. (1997) MYB transcription factors in plants. *Trends in Genetics* 13: 67-73.
42. McClintock B. (1950) The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 36 (6): 344–355.
43. Mlotshwa S., Pruss G.J., Vance V. (2008) Small RNAs in viral infection and host defense. *Trends in Plant Science* 13: 375-382.
44. Ng M., Yanofsky M.F. (2001) Function and evolution of the plant MADS-box gene family. *Nature Reviews Genetics* 2: 186-195.
45. Olsen A.N., Ernst H.A., Leggio L.L., Skriver K. (2005) NAC transcription factor: structurally distinct, functionally diverse. *Trends in Plant Science* 10: 79-87.
46. Palatnik J.F., Allen E., Wu X., Schommer C., Schwab R., Carrington J.C., Weigel D. (2003) Control of leaf morphogenesis by microRNAs. *Nature* 425: 257-263.

47. Pérez-Rodríguez P., Riaño-Pachón D.M., Corrêa L.G.G., Rensing S.A., Kersten B., Mueller-Roeber B. (2010) PlnTFDB: updated content and new features of the plant transcription factor database. *Nucleic Acids Research* 38: D822-D827.
48. Pfluger J., Wagner D. (2007) Histone modifications and dynamic regulation of genome accessibility in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 645–652.
49. Pysh L.D., Wysocka-Diller J.W., Camilleri C., Bouchez D., Benfey P.N. (1999) The GRAS gene family in *Arabidopsis*: sequence characterization and basic expression analysis of the *SCARECROW-LIKE* genes. *The Plant Journal* 18: 111-119.
50. Reinhart B.J., Weinstein E.G., Rhoades M.W., Bartel B., Bartel D.P. (2002) MicroRNAs in plants. *Genes & Development* 16: 1616-1626.
51. Reiser L., Sanchez-Baracaldo P., Hake S. (2000) Knots in the family tree: evolutionary relationships and functions of *knox* homeobox genes. *Plant Molecular Biology*. 42: 151–166.
52. Richards D.E., Peng J., Harberd N.P. (2000). Plant GRAS and metazoan STATS: one family? *Bioessays* 22: 573-577.
53. Riechmann J.L. (2002) Transcriptional Regulation: a Genomic Overview. In: *The Arabidopsis Book*, eds. C.R. Somerville and E.M. Meyerowitz, American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, p.1-46. (doi/10.1199/tab.0009, <http://www.aspb.org/publications/arabidopsis>).
54. Riechmann J.-L., Wang M., Meyerowitz E.M. (1996) DNA-binding properties of Arabidopsis MADS domain homeotic proteins *APETALA1*, *APETALA3*, *PISTILLATA*, and *AGAMOUS*. *Nucleic Acids Research* 24: 3134-3141.
55. Riechmann J.L., Meyerowitz E.M. (1997) Determination of floral organ identity by Arabidopsis MADS domain homeotic proteins AP1, AP3, PI, and AG is independent of their DNA-binding specificity. *Molecular Biology of the Cell* 8: 1243-1259.
56. Ross C.A., Liu Y., Shen Q.J. (2007) The *WRKY* gene family in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Integrative Plant Biology* 49: 827-842.
57. Scofield S., Walter Dewitte W., Murray J.A.H. (2007) The KNOX gene SHOOT MERISTEMLESS is required for the development of reproductive meristematic tissues in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 50: 767–781.
58. Schubert D., Clarenz O., Goodrich J. (2005) Epigenetic control of plant development by Polycomb-group proteins. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 553-561.
59. Serna L. (2007) bHLH protein know when to make a stoma. *Trends in Plant Science* 12: 483-485.
60. Smith H.M., Boschke I., Hake S. (2002) Selective interaction of plant homeodomain proteins mediates high DNA-binding affinity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99(14): 9579-9584.
61. Stone S.L., Kwong L.W., Yee R.V., Pelletier J., Lepiniec L., Fischer R.L., Goldberg R.B., Harada J.J. (2001) *LEAFY COTYLEDON2* encodes a B3 domain transcription factor that induces embryo development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 11806-11811.
62. Takatsuji G. (1999) Zink finger proteins: the classical zink finger emerges in con temporary plant science. *Plant Mol. Biol.* 39: 1073-1078.
63. Tyagi A.K. (2001) Plant genes and their expression. *Current Science* 80: 161-169.
64. Ulker B., Somssich I.E. (2004) WRKY transcription factors: from DNA binding towards biological function. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 491–498.

65. Vaillant I., Paszkowski J. (2007) Role of histone and DNA methylation in gene regulation. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 528–533.
66. Vaillant I., Schubert I., Tourmente S., Mathieu O. (2006) MOM1 mediates DNA-methylation-independent silencing of repetitive sequences in *Arabidopsis*. *European Molecular Biology Organization (EMBO) Reports* 7: 1273-1278.
67. Vaucheret H. *Plant ARGONAUTS* (2008) *Trends in Plant Science* 13: 350-357.
68. Vazques F. (2006) *Arabidopsis* endogenous small RNAs: highways and byways. *Trends in Plant Science* 11:460-468.
69. Waddington C.H. (1957) *The Strategy of the Genes*. London: Geo Allen & Unwin.
70. Weigel D., Meyerowitz E.M. (1993) Activation of floral homeotic genes in *Arabidopsis*. *Science* 261: 1723-1726.
71. Wessler S.R. (2005) Homing into the origin of the AP2 DNA binding domain. *Trends in Plant Science* 10:54-56.
72. Williams R. W. (1998) Plant homeobox genes: many functions stem from a common motif. *BioEssays* 20: 280–282.
73. Xie Q., Frugis G., Colgan D., Chua N.H. (2000) *Arabidopsis* NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development. *Genes & Development*. 14: 3024-3036.
74. Xu G., Kong H. (2007) Duplication and divergence of floral MADS-box genes in grasses: evidence for the generation and modification of novel regulators. *Journal of Integrative Plant Biology* 49: 927-939.
75. Xu G., Kong H. (2007) Duplication and divergence of floral MADS-Box genes in grasses: evidence for the generation and modification of novel regulators. *Journal of Integrative Plant Biology* 6: 927-939.
76. Zhu T., Budworth P., Han B., Brown D., Chang H-S., Zou G., Wang X. (2001) Toward elucidating the global gene expression patterns of developing *Arabidopsis*: Parallel analysis of 8 300 genes by a high-density oligonucleotide probe array. *Plant Physiology and Biochemistry* 39: 221–242.
77. Zilberman D. (2008) The evolving functions of DNA methylation. *Current Opinion in Plant Biology* 11: 554–559.

Genetic and Epigenetic Regulation of Plant Development

Sergey S. Medvedev and Elena I. Sharova

*Saint-Petersburg State University,
7-9 Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034 Russia*

*The completion of the *Arabidopsis thaliana* genome sequencing in 2000 was the key event in plant biology. Over the past 10 years, genomes of another three plant species (rice, alfalfa and poplar) were almost completely sequenced. The sequencing of maize, wheat, barley, vine and tomato genomes is in progress. It is arising a new science – genomics, that investigates nucleotide composition of genome, principles of individual genes and their complexes functioning, as well as genome evolution. Biology turns into so called post-genomic period of its history, in which predominant researches start with*

genome and protein sequencing and complete with determination of individual genes and proteins functions, and their evolutionary origin too. On the other hand, genes activity depends not only on the transcription factors specific to the given genes but also on the whole complex of factors able to directly or indirectly influence chromatin structure. For this reason, realization of information enclosed in genome depends not only on nucleotide sequence of given genes but also on environment, chromatin state, modifications of DNA and its transcripts, i.e. it is under epigenetic control. Epigenetic state of plant organisms is determined by levels and patterns of DNA methylation, post-translational modifications of histones, the presence of histone variants and chromatin compaction. Recently discovered noncoding microRNAs, playing key role in genes silencing by cleavage of genes transcripts or by repression of mRNA translation, may serve as a kind of «switches» for cell developmental programs. It is becoming evident that small RNAs perform a wealth of key functions in eukaryotic organisms, and therefore it is now impossible to use the simple scheme «DNA-RNA-protein» for description of genome work. In the article, it is discussed the role that transcription factors, small RNAs, modifications of DNA and chromatin play in the regulation of plant growth and development.

Keywords: plant development, transcription factors, epigenetics, DNA and histone modifications, small RNA, microRNA
