

Фосфорилирование гистона H3Ser10 в делении растительной клетки

Д.Б. Логинова, О.Г. Силкова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Гистоны, основные белковые компоненты хроматина, подвергаются посттрансляционным модификациям, которые влияют на особенности структурно-функциональной организации хромосом. Самыми распространенными посттрансляционными модификациями являются фосфорилирование, метилирование, ацетилирование и убиквитинирование. Фосфорилирование гистонов происходит в основном на N-концевых доменах серинов (Ser) и треонинов (Thr) и задействовано в регуляции различных процессов в митотическом и мейотическом делениях. На сегодняшний день показано, что данный вид модификации необходим для активации транскрипции, репарации разрывов ДНК, рекомбинации, а также для конденсации и расхождения хромосом. Среди четырех основных гистонов для гистона H3 характерно наличие большего числа сайтов модификации. У растений наиболее хорошо изучено фосфорилирование гистона H3 по серину в 10-м и 28-м положениях и треонину в 3, 11, 32 и 133-м положениях. В обзоре собраны известные на настоящий момент данные о пространственно-временном распределении фосфорилирования H3 по серину в 10-м положении (phH3Ser10) в митозе и мейозе у разных видов растений. Для большинства видов характерно фосфорилирование только прицентромерных районов в митозе и во втором делении мейоза, и по всей длине хромосом – в первом делении мейоза. Однако существуют исключения в распределении phH3Ser10 у мхов и в роде *Cestrum* (*Cestrum*), а также у видов с голоцентрическими хромосомами. Встречаются противоречивые данные по распределению phH3Ser10 в митозе и мейозе у одних и тех же видов. Функциональное значение phH3Ser10 в клеточном делении у растений связывают с активностью центромеры, когезией центромер и сестринских хроматид и сегрегацией хромосом. Обсуждается участие известных на данный момент кандидатов киназ и фосфатаз в динамике фосфорилирования H3Ser10. Обзор дает общее представление о роли модификации phH3Ser10 в делении и расхождении хромосом в митозе и мейозе.

Ключевые слова: высшие растения; фосфорилирование; гистон H3; серин; митоз; мейоз.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Логинова Д.Б., Силкова О.Г. Фосфорилирование гистона H3Ser10 в делении растительной клетки. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(1):87-95. DOI 10.18699/VJ16.132

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Loginova D.B., Silkova O.G. Phosphorylation of histone H3Ser10 in plant cell division. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(1):87-95. DOI 10.18699/VJ16.132

REVIEW

Received 16.07.2015 г.
Accepted for publication 25.09.2015 г.
© AUTHORS, 2016

✉ e-mail: loginova@bionet.nsc.ru

Phosphorylation of histone H3Ser10 in plant cell division

D.B. Loginova, O.G. Silkova

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Histones, the major protein components of chromatin, undergo post-translational modifications, which particularly affect the structural and functional organization of chromosomes. The most common post-translational modifications are phosphorylation, methylation, acetylation and ubiquitination. Histone phosphorylation occurs mainly at N-terminal tails of serines (Ser) and threonines (Thr), and coordinates various processes of mitotic and meiotic division. It has been shown that this type of modification is required for activation of transcription, DNA damage repair, recombination and also for chromosome condensation and segregation. Histone H3 is characterised by the presence of a large number of modification sites among the four core histones. In plants, phosphorylation of histone H3 at serine positions 10 and 28 and at threonine positions 3, 11, 32 and 133 is the most well studied. This review contains the most complete data on the spatial and temporal distribution of H3 phosphorylation of serine at position 10 (phH3Ser10) in mitosis and meiosis in different plant species. Most species are characterised by phosphorylation of the centromeric region in mitosis and second meiotic division, and by phosphorylation throughout the chromosomes in the first meiotic division. However, there are exceptions to the phH3Ser10 distribution in mosses and *cestrum*, as well as in species with holocentric chromosomes. There are contradictory data on the phH3Ser10 distribution in mitosis and meiosis in the same species. The functional significance of phH3Ser10 in cell division in plants is associated with the activity of the centromere, centromere cohesion and sister chromatid and chromosome segregation. We discuss the participation of currently known candidate kinases and phosphatases in the dynamics of H3Ser10 phosphorylation. The review provides an overview of the role of phH3Ser10 modification in the chromosome division and segregation in mitosis and meiosis.

Key words: higher plants; phosphorylation of histone H3 at Ser10; mitosis; meiosis.

Хроматин эукариот организован в основные единицы, нуклеосомы, состоящие примерно из 147 пар оснований (п. о.) ДНК, обернутой вокруг гистонового октамера, включающего по две молекулы гистонов H2A, H2B, H3 и H4. Гистоновые белки состоят из корового домена, который осуществляет взаимодействие между различными гистонами в пределах октамера, и N-концевого фрагмента, посттрансляционные модификации (ПТМ) которого влияют на структуру и функцию хроматина (Wang, Higgins, 2013). Существует по крайней мере восемь различных типов модификаций гистонов, среди которых наиболее изученными являются ацетилирование, метилирование и фосфорилирование (Fuchs et al., 2006; Ito, 2007; Wang, Higgins, 2013; Zhang et al., 2014). Наибольшее число сайтов модификации из четырех основных гистонов описано для гистона H3, и эти модификации участвуют в регуляции генов и сборке хроматина (Ito, 2007).

У растений изучено фосфорилирование гистонов H2A и H3 по остаткам треонина и серина: гистона H2A – по треонину в 120-м и 133-м положениях (phH2AThr120 и phH2AThr133), гистона H3 – по треонину в 3, 11 и 32-м положениях (phH3Thr3, phH3Thr11 и phH3Thr32) и серину в 10-м и 28-м положениях (phH3Ser10 и phH3Ser28) (Gernand et al., 2003; Houben et al., 2005; Caperta et al., 2008; Dong, Han, 2012; Demidov et al., 2014; Zhang et al., 2014). Все эти модификации динамичны и имеют непосредственное отношение к расхождению хромосом, запускаясь на стадии профазы и завершаясь в поздней анафазе или телофазе. Фосфорилирование H2AThr133 и H2AThr120 наблюдается в центромерных и прицентромерных районах как в митозе, так и в мейозе, и, по данным авторов, связано с активностью центромеры (Dong, Han, 2012; Demidov et al., 2014). Фосфорилирование H3Thr3, H3Thr11 и H3Thr32 происходит вдоль всей хромосомы в митозе и первом делении мейоза, но во втором делении мейоза phH3Thr3 ограничивается только центромерной областью, а phH3Thr11 и phH3Thr32 распространяется вдоль хромосом (Houben et al., 2005, 2007; Caperta et al., 2008). Предполагают, что данные модификации вовлечены в компактизацию хромосом.

Фосфорилирование H3Ser10 известно для всех высших растений, однако характер локализации данной ПТМ варьирует в зависимости от типа деления клетки (митоз или мейоз) и вида растений (Houben et al., 1999; Kaszas, Cande, 2000; Manzanero et al., 2000; Pedrosa et al., 2001; Fernandes et al., 2008; Marcon-Tavares et al., 2014). Фосфорилирование H3Ser10 в прицентромерной области хромосом связывают с активностью центромеры (Han et al., 2006; 2009; Gao et al., 2011). Согласно другим данным, фосфорилирование H3Ser10 играет важную роль в активации транскрипции (Ito, 2007). Динамика фосфорилирования гистона H3 по остаткам Ser28 и Ser10 в митозе и мейозе практически не различается, однако phH3Ser28 локализуется в основном в коровой части центромеры (непосредственно на первичной перетяжке), а phH3Ser10 – в прицентромерном районе (Gernand et al., 2003). На основании различного паттерна локализации phH3Ser10 и phH3Ser28 на хромосомах в митозе и мейозе у растений и животных полагают, что у растений обе модификации необходимы для осуществления когезии

сестринских хроматид (Kaszas, Cande, 2000; Manzanero et al., 2000; Gernand et al., 2003; Houben et al., 2007), а у животных – для конденсации хроматина (Hendzel et al., 1997).

Наличие phH3Ser10 у большого числа таксонов: инфузорий (*Tetrahymena thermophile*) (Wei et al., 1998), дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*), млекопитающих (Hendzel et al., 1997), а также грибов (*Aspergillus nidulans*) и насекомых (*Drosophila melanogaster*) (Wei et al., 1998) свидетельствует о высокой консервативности данной модификации среди эукариот и ее важной роли в делении клетки. Несмотря на большое количество работ, связанных с исследованием фосфорилирования H3Ser10, функция этой модификации в клеточном делении еще не полностью определена. В обзоре представлены известные на сегодняшний день данные о пространственно-временном паттерне фосфорилирования H3Ser10 на хромосомах растений в митозе и мейозе, обсуждается роль данной модификации в клеточном цикле растений, а также рассмотрены кандидаты киназ, участвующих в динамике phH3Ser10.

Фосфорилирование гистона H3 в митозе

Фосфорилирование гистона H3 у видов с моноцентрическими хромосомами

Для большинства исследованных сосудистых растений с моноцентрическими хромосомами показано, что в митозе фосфорилирование гистона H3 по серину в 10-м положении наблюдается в прицентромерной области начиная с профазы и исчезает в телофазе (рис. 1, а–в). Большая часть исследований ведется на однодольных (злаках): ржи (*Secale cereale*) (Houben et al., 1999; Manzanero et al., 2000; Manzanero et al., 2002; Gernand et al., 2003; Oliver et al., 2013); ячмене (*Hordeum vulgare*) (Houben et al., 1999; Manzanero et al., 2002; Gernand et al., 2003); кукурузе (*Zea mays*) (Kaszas, Cande, 2000); пшенице (*Triticum aestivum*) (Gernand et al., 2003), а также на двудольных растениях: бобах (*Vicia faba*) (Houben et al., 1999; Manzanero et al., 2002) и арабидопсисе (*Arabidopsis thaliana*) (Gernand et al., 2003; Oliver et al., 2013).

Первая работа по анализу распределения phH3Ser10 в митозе ржи (*S. cereale*), ячменя (*H. vulgare*) и бобов (*V. faba*) была сделана в 1999 г. методом непрямой иммунофлюоресценции (иммунофлюоресцентный анализ, ИФА) с использованием антител, распознающих гистон H3, фосфорилированный по серину в 10-м положении (Houben et al., 1999). Сигнал иммунолокализации детектировали преимущественно в прицентромерной области хромосомы. Однотипные результаты были получены у кукурузы (*Z. mays*) (Kaszas, Cande, 2000). Фосфорилирование H3Ser10 инициировалось в профазе в прицентромерной области некоторых хромосом, в метафазе и анафазе у всех хромосом наблюдали яркий сигнал в прицентромерной области, который исчезал в телофазе (Kaszas, Cande, 2000).

Центромерную локализацию сигналов phH3Ser10 иммунофлюоресценции также наблюдали у пшеницы (*T. aestivum*), арабидопсиса (*A. thaliana*) и ячменя (*H. vulgare*) (Gernand et al., 2003). Однако, по данным Oliver с коллегами (2013), фосфорилирование H3Ser10 у *A. thaliana* в метафазе–анафазе происходило по всей длине хромосом (Oliver et al., 2013). Наблюдаемые различия могли быть

связаны со сложностью интерпретации данных на хромосомах небольшого размера. С другой стороны, распространение фосфорилирования на всю длину хромосом в анафазе митоза было детектировано также в делящихся ВУ-2 клетках (Kawabe et al., 2005; Kurihara et al., 2006) и протопластах, выделенных из листьев табака (*Nicotiana tabacum*) (Li et al., 2005). Как и в других случаях, фосфорилирование начиналось в профазе, на стадиях метафазы и ранней анафазы оно наблюдалось только в области центromеры, однако в поздней анафазе распространялось на всю длину хромосом и постепенно исчезало в телофазе (Kawabe et al., 2005; Li et al., 2005; Kurihara et al., 2006). Воспроизводимость результатов ИФА в нескольких работах на табаке исключает ошибку метода. Возможно, такой паттерн фосфорилирования видоспецифичен, кроме того, все три работы проводились не на клетках апикальной меристемы корня (как в большинстве других работ), а на протопластах или отдельных клеточных культурах, что также могло быть причиной таких отличий.

У видов с крупными хромосомами многие авторы отмечали наличие сигнала иммунолокализации антител к фосфорилированному гистону H3Ser10 в прицентромерной области и его отсутствие непосредственно в месте первичной перетяжки в митозе (Houben et al., 1999; Fernandes et al., 2008; Marcon-Tavares et al., 2014).

Отсутствие pH3Ser10 в коровом районе центromеры хорошо проиллюстрировано на хромосомах ячменя при помощи иммуноокрашивания с наночастицами золота и сканирующей электронной микроскопии (Schroeder-Reiter et al., 2003). Данная особенность может быть связана с заменой гистона H3 в области центromеры на его центромеспесицифичный вариант, CENH3, а отсутствие такого промежутка в локализации антител к pH3Ser10 у видов с более мелкими хромосомами – с меньшим размером центромерной области (Houben et al., 1999; Marcon-Tavares et al., 2014).

Среди сосудистых растений прицентромерный паттерн pH3Ser10 обнаружен также у других представителей однодольных (Pedrosa et

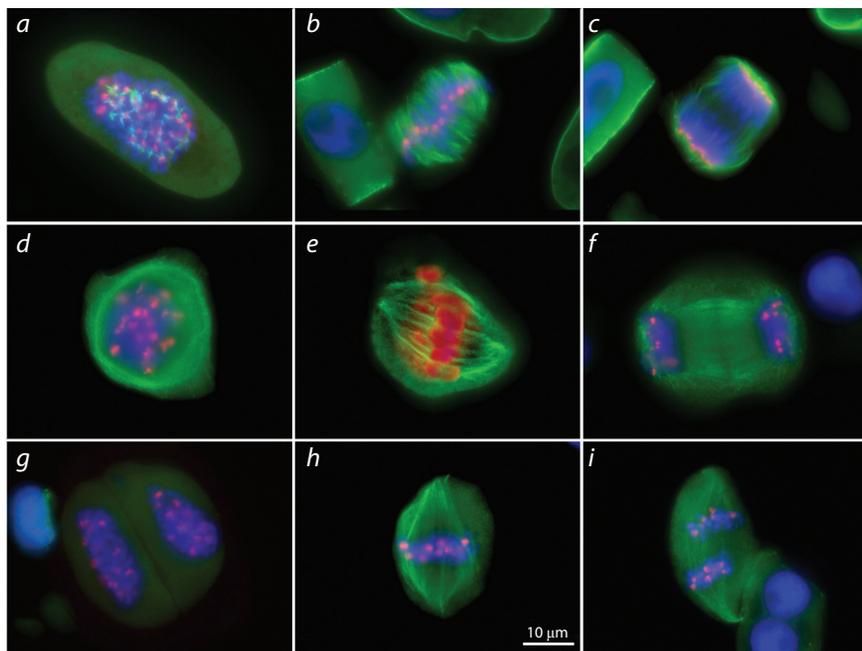


Fig. 1. Phosphorylation of H3Ser10 in *Triticum aestivum*: (a–c) mitosis, (d–i) meiosis.

a, Prophase; b, metaphase; c, late anaphase; d, prophase I; e, metaphase I; f, telophase I; g, prophase II; h, metaphase II; i, anaphase II. Blue coloration indicates chromosomes stained with DAPI; green, α -tubulin of spindle microtubules; red, phosphorylated H3Ser10. Scale bar 10 μ m.

al., 2001; Manzanero et al., 2002; Feitoza, Guerra, 2011; Marcon-Tavares et al., 2014) и двудольных растений (Fernandes et al., 2008; Marcon-Tavares et al., 2014), а также у папоротникообразных, плауновидных и голосеменных растений (Marcon-Tavares et al., 2014). Отметим, что у растений птицемлечника (*Ornithogalum longibracteatum*) семейства Спаржевые (*Asparagaceae*) была показана корреляция pH3Ser10 с наличием центромерного тандемного повтора Sat1, присутствующего как в центromере, так и в области интеркалярного гетерохроматина (в меньшем количестве) (Pedrosa et al., 2001).

Фосфорилирование у видов с голоцентрическими хромосомами и мхов

Среди высших растений представители видов: хионографис японский (*Chionocephalus japonica* Maxim.) из семейства Лилейные (*Liliaceae*) и мускатный орех (*Myristica fragrans* Hout.) из семейства Мускатниковые (*Myristicaceae*); одного из подродов Повилика (*Cuscuta*) семейства Вьюнковые (*Convolvulaceae*); рода Росянка (*Drósera*) (но не других Росянковых), а также представители двух семейств, Ситниковые (*Juncaceae*) и Осоковые (*Cyperaceae*), имеют голоцентрические хромосомы (Guerra et al., 2006), поведение и структура которых в митозе существенно отличается от моноцентрических. Основными особенностями голоцентрических хромосом являются: отсутствие первичной перетяжки в прометафазе и метафазе, прикрепление микротрубочек веретена деления по всей длине хромосом и параллельное расхождение сестринских хроматид в анафазе (Germand et al., 2003; Guerra et al., 2006).

Отличия в структуре митотических хромосом повлекли за собой отличие в паттерне фосфорилирования H3Ser10 (Germand et al. 2003; Guerra et al., 2006). У ожики (*Luzula luzuloides*) (сем. Ситниковые, *Juncaceae*) сигналы иммунофлюоресценции pH3Ser10 становились видимыми с началом конденсации хромосом на ранних стадиях профазы. Стабильный сигнал наблюдали по всей длине хромосомы в мета- и анафазе. Флуоресценция исчезала с деконденсацией хромосом в телофазе (Germand et al., 2003). Сходные результаты были получены для растений очеретника (*Rhynchospora tenuis*) (сем. Осоковые,

Сурегасеае) (Guerra et al., 2006). Marcon-Tavares с соавторами (2014) наблюдали фосфорилирование митотических хромосом по всей длине также и у других представителей семейства Осоковые, а именно: еще одного вида очеретника (*Rhynchospora pubera*), болотницы (*Eleocharis geniculata*), фимбристилиса (*Fimbristylis miliacea*).

Недавние исследования в данной области показали, что среди высших растений, кроме растений с голоцентрическими хромосомами, фосфорилирование по всей длине хромосомы в митозе наблюдается также у мхов (бриофитов) (Marcon-Tavares et al., 2014). У растений нототиласа (*Notothylas vitalii*) (сем. Нототиласовые) и риччии (*Riccia plano-biconvexa*) (сем. Риччиевые) флюоресцентный сигнал становился видимым в профазе диффузно по всей хромосоме, достигал максимума к метафазе и исчезал в ранней телофазе. У *N. vitalii* и *R. plano-biconvexa* первичных перетяжек не наблюдали, но V- или I-образная форма хромосом в анафазе позволяла предположить, что они являются типичными моноцентриками. Авторы предположили, что характер фосфорилирования хромосом в митозе мохообразных более близок к фосфорилированию хромосом животных, чем филогенетически изолированных голоцентрических хромосом растений. Также в работе отмечали, что возможной причиной отсутствия pH3Ser10 на плечах хромосом у сосудистых растений с моноцентрическими хромосомами послужило приобретение компенсирующих модификаций ввиду необходимости приспособливаться к окружающей среде (Marcon-Tavares et al., 2014).

Фосфорилирование гистона H3 в мейозе

Фосфорилирование гистона H3 в норме у растений

Фосфорилирование гистона H3Ser10 в мейозе растений значительно отличается от такового в мейозе животных или в митозе растений (в случае первого деления) (Manzanero et al., 2000). У ржи (*S. cereale*) и пшеницы (*T. aestivum*) первые диффузные сигналы pH3Ser10 наблюдали при переходе от лептотены к зиготене. В диакинезе иммулокализацию антител к pH3Ser10 наблюдали по всей длине хромосом, но более интенсивный сигнал отмечен в области центромеры. Пик фосфорилирования вдоль хромосомы приходился на метафазу I, в телофазе I фосфорилирование постепенно исчезало. В начале профазы II конденсация хромосом совпала с новым этапом фосфорилирования H3Ser10, начинающегося в отдельных областях. В конце профазы II и в метафазе II в центромерной области наблюдали яркие сигналы иммулокализации, в то время как плечи хроматид были очень слабо помечены. Фосфорилирование в районе центромеры сохранялось после разделения сестринских хроматид в анафазе II, в телофазе II оно постепенно исчезало, совпадая с началом деконденсации хромосом (Manzanero et al., 2000). Сходные данные были получены на кукурузе (*Z. mays*) (Kaszas, Candé, 2000). Отличия от ржи (*S. cereale*) и пшеницы (*T. aestivum*) заключались в том, что у кукурузы в профазе I на стадиях лептотены и диакинеза присутствовало два сигнала на ядрышкообразующих районах, а в пахитене – только один сигнал, когда хромосомы были полностью спарены. Распространение сигнала на всю

длину хромосом в прометафазе совпадало с разрушением ядерной оболочки. Во втором делении у кукурузы, в отличие от ржи и пшеницы, фосфорилирование полностью исчезало к началу телофазы II.

Фосфорилирование гистона H3 у растений с унивалентными хромосомами

Характер фосфорилирования H3Ser10 на унивалентных хромосомах был изучен на примере мейоза ржи (*S. cereale*), геном которой содержит добавочные В-хромосомы; гаплоидной пшеницы (*T. aestivum*), а также моносомной дополненной линии пшеницы, к геному которой добавлено длинное плечо хромосомы ржи 5RL (Manzanero et al., 2000). Общая картина распределения сигнала pH3Ser10 в первом делении мейоза соответствовала фосфорилированию гистона H3 у растений ржи без В-хромосом (Manzanero et al., 2000). В метафазе I и анафазе I В-хромосомы ржи и униваленты пшеницы были фосфорилированы по всей длине хромосом наравне с бивалентами. Различия в картине фосфорилирования становились очевидными в метафазе–анафазе второго деления. Одиночные хроматиды, располагающиеся отдельно от остальных хромосом в метафазе II или задерживающиеся в эквационной плоскости в анафазе II, не имели флюоресцентных сигналов pH3Ser10 в прицентромерной области, но были прикреплены к микротрубочкам веретена деления.

Особенности фосфорилирования гистона H3 у *Cestrum strigilatum*, несущего одну В-хромосому

К настоящему моменту только для одного вида растений, цеструма (*Cestrum strigilatum*), была показана прицентромерная (в отличие от фосфорилирования по всей длине хромосом у других видов) локализация pH3Ser10 в первом делении мейоза. *C. strigilatum* – двудольное растение, относящееся к семейству Пасленовые (Solanaceae), характеризуется наличием в геноме В-хромосом (Fernandes et al., 2008). У исследованных растений в 23 % мейоцитов наблюдалось наличие унивалентной В-хромосомы, всегда расположенной отдельно от А-хромосом. В-хромосома задерживалась на экваторе в первом делении и делилась на хроматиды во втором делении мейоза. И в первом, и во втором делениях мейоза фосфорилирование А-хромосом проходило только в прицентромерной области и детектировалось начиная с пахитены до поздней анафазы I, полностью исчезая в телофазе I. Затем детекция сигнала воспроизводилась начиная с профазы II до ранней телофазы II. Временное распределение фосфорилирования на В-хромосомах в первом делении не отличалось от такового у А-хромосом, однако происходило по всей длине, за исключением терминального района длинного плеча. Во втором делении флюоресцентный сигнал на разошедшихся В-хроматидах не наблюдали. Авторы объяснили отличие мейотического фосфорилирования H3Ser10 *C. strigilatum* от других видов, описанных в литературе, видовыми особенностями и предположили, что оно может быть связано с «движением» (motility) хромосом, но не с конденсацией или когезией (Fernandes et al., 2008). Хотя авторы сделали вывод о различии паттерна фосфорилирования у А- и В-хромосом, размер

сайтов локализации антител практически не отличался. Возможно, фосфорилируемая прицентромерная область В-хромосомы занимает почти всю ее длину, тем более что у сосудистых растений размер блоков иммунолокализации антител к pH3Ser10 относительно стабилен между хромосомами в пределах кариотипа даже у видов со значительно различающейся морфологией хромосом, например телоцентрических и метацентрических у ностокордума (*Nothoscordum pulchellum*), или с большой разницей в размере хромосом, как у ципуры (*Cipura paludosa*) (Marcon-Tavares et al., 2014). У элеутерины (*Eleutherine bulbosa*) крупнейшая хромосома в пять раз больше, чем мелкие, но все они показали аналогичные по размеру прицентромерные флюоресцентно окрашенные блоки pH3Ser10 (Feitoza, Guerra, 2011).

Случаи противоречивых данных по фосфорилированию гистона H3 в митозе и мейозе

Для растений с небольшим геномом иммунофлюоресцентный анализ затруднен, поскольку сложно получить четкую картину распределения сигналов при малом размере хромосом (Gernand et al., 2003; Oliver et al., 2013; Paula et al., 2013). Как результат – разнящиеся данные по паттерну фосфорилирования у одних и тех же объектов (Gernand et al., 2003; Oliver et al., 2013) или трудно сопоставимые данные иллюстраций и текстового сопровождения материала (Paula et al., 2013). Так, в митозе арабидопсиса (*A. thaliana*) первые различимые сигналы локализации антител к pH3Ser10 появлялись с началом конденсации хромосом в ранней профазе. В метафазе и анафазе яркие сигналы были хорошо различимы в прицентромерной области хромосом и исчезали с началом их деконденсации в телофазе (Gernand et al., 2003). Однако, по данным Oliver с коллегами (2013), фосфорилирование начиналось не с началом конденсации хромосом, а в середине – конце профазы. К метафазе оно распространялось на плечи хромосом и исчезало в конце телофазы. Кроме того, в мейозе *A. thaliana* наблюдали отличия от уже известных данных по другим растениям (Manzanero et al., 2000). Фосфорилирование H3Ser10 начиналось в диплотене в прицентромерной области (а не при переходе от лептотены к зиготене, как у кукурузы, Manzanero et al., 2000). Следующей неожиданностью оказалось распространение pH3Ser10 на плечи хромосом во втором делении мейоза, т.е. картина фосфорилирования была аналогична наблюдаемой в первом делении мейоза (Oliver et al., 2013).

В мейозе брахиарии (*Brachiaria ruziziensis*, *B. decumbens* и *B. brizantha*) (сем. Злаковые, Gramineae) описана иная картина фосфорилирования (Paula et al., 2013). У всех исследованных растений во время первого деления фосфорилирование H3 распространялось на целые хромосомы и исчезало в телофазе I. Несмотря на то что сами авторы описали паттерн фосфорилирования во втором делении мейоза как прицентромерный, на иллюстрациях к статье распределение флюоресцентного сигнала совпадает с контурами DAPI-окрашенных хромосом, т.е. идет по всей длине хромосом (Paula et al., 2013). Ошибка интерпретации возможна вследствие малого размера компактизованных мейотических хромосом во втором делении.

Несоответствия в картине фосфорилирования можно отметить и в работах с растениями, имеющими крупные хромосомы, например с бобами (*V. faba*) (Houben et al., 1999; Demidov et al., 2005). Так, в работе Houben с коллегами были отмечены слабое окрашивание плеч хромосом и яркий сигнал в прицентромерной области в метафазе – анафазе митоза (Houben et al., 1999). В более поздней работе, выполненной на том же объекте, была показана строгая прицентромерная локализация флюоресцентного сигнала на акроцентрической хромосоме и отсутствие такового на плечах хромосомы (Demidov et al., 2005). Наблюдаемое отличие могло быть связано с особенностями используемого метода. Для непрямого ИФА в том и другом случаях использовали поликлональные антитела, а детекцию флюоресцентного сигнала вели с помощью эпифлюоресцентной микроскопии (EfM, Epifluorescence Microscopy). Оба этих фактора имеют некую погрешность, связанную со специфичностью сигнала и оптическим разрешением. Поликлональные антитела имеют ряд особенностей, способствующих появлению «фонового» (неспецифичного) сигнала, следующих из способа получения. Сыворотка поликлональных антител состоит из продуктов секреции нескольких клонов В-лимфоцитов, которые имеют разную специфичность (антитела к отличающимся участкам связывания с антигеном и даже к разным антигенам), аффинность (сродство к связываемому антигену) и др. (Свешников и др., 2006). Кроме того, из-за объемности клеточных препаратов оптическое разрешение хромосом, анализируемых с помощью обычной EfM микроскопии, ограничено.

Отличия в картине фосфорилирования H3Ser10 были отмечены при анализе хромосом митотических препаратов ржи (*S. cereale*) (Houben et al., 1999). Различия в распределении флюоресцентного сигнала авторы связывали с использованием разных способов фиксации данных, а именно: обычной эпифлюоресцентной микроскопии (EfM) и вычислительной деконволюционной микроскопии (CDM, Computational Deconvolution Microscopy). В случае использования EfM наблюдался слабый сигнал на плечах хромосом и более яркий сигнал в прицентромерной области. С другой стороны, при использовании CDM яркие сигналы наблюдали в прицентромерной области, с единичными точечными сигналами в области плеч хромосом. Однако авторы отметили, что деконволюционная микроскопия имеет тенденцию к повышению ярких сигналов при понижении или даже устранении слабых (Houben et al., 1999; Wallace et al., 2012).

Функциональное значение фосфорилирования в делении растительной клетки

Фосфорилирование гистона H3Ser10 коррелирует с когезией сестринских хроматид

Хотя фосфорилирование H3Ser10 коррелирует с конденсацией хромосом в митозе у животных (Hendzel et al., 1997), а также в митозе и мейозе низших эукариот, например, инфузорий (Wei et al., 1999), причинно-следственная связь между ними до сих пор не ясна. Предполагалось, что у животных фосфорилированный гистон H3 привлекает к хромосоме топоизомеразу 2 (Hendzel et al., 1997). Однако

для мейоза это оказалось не так. В мейозе мышей локализация топоизомеразы 2 на хромосомах и их конденсация начинались в ранней профазе, а фосфорилирование наблюдалось в поздней профазе I (Cobb et al., 1999).

По аналогии с животными в первых работах на растениях также высказывались предположения о возможном участии фосфорилирования в конденсации хромосом (Houben et al., 1999), поскольку начало фосфорилирования совпадало с началом конденсации и исчезало с деконденсацией хромосом. Однако в более поздних работах показано, что фосфорилирование связано скорее с когезией сестринских хроматид в митозе и мейозе, а не со степенью их конденсации (Kaszas, Cande 2000; Manzanero et al., 2000; Manzanero et al., 2002; Brasileiro-Vidal et al., 2005; Feitoza, Guerra, 2011). В пользу этого предположения свидетельствует ряд данных. Во-первых, отсутствие сигналов иммулокализации антител к pH3Ser10 на нормально конденсированных задерживающихся хроматидах и фрагментах хромосом в митозе гибридов с нестабильным геномом (Brasileiro-Vidal et al., 2005), а также на одиночных хроматидах во втором делении мейоза гаплоидных растений пшеницы и В-хроматидах ржи (Manzanero et al., 2000). Во-вторых, у растений элеутерины (*E. bulbosa*), для которых известна четко определяемая ранняя конденсация первой пары хромосом в профазе, не наблюдали ни преждевременного, ни более интенсивного фосфорилирования данных хромосом (Feitoza, Guerra, 2011). В-третьих, начало фосфорилирования хромосом не совпадает с началом их конденсации в первом мейотическом делении у кукурузы. Четкие сигналы pH3Ser10 на всех хромосомах наблюдали лишь при переходе от диакинеза к прометафазе, когда хромосомы были уже полностью конденсированы (Kaszas, Cande 2000).

Отсутствие связи pH3Ser10 с конденсацией хромосом было установлено у ячменя и ржи (Manzanero et al., 2002). Использование ингибиторов фосфатазы (кантаридина и оадаевой кислоты) не имело сильного влияния на фосфорилирование гистона H3 и не приводило к преждевременной конденсации хромосом в интерфазе (Manzanero et al., 2002). Наблюдаемое в митозе уменьшение длины конденсированных хромосом, гиперфосфорилированных по всей длине, было сопоставимо с укорочением хромосом, вызванным холодной обработкой, при которой дополнительные сайты фосфорилирования появлялись лишь в некоторых участках плеч, но не по всей длине хромосом (Manzanero et al., 2002). Эти данные отличаются от результатов, полученных на животных (Guo et al., 1995). При обработке культуры раковых клеток мыши оадаевой кислотой и фострейцином (ингибиторами фосфатаз PP1 и PP2A) фосфорилирование гистона H3 и полную конденсацию хромосом наблюдали уже на стадии G2 (Guo et al., 1995).

Кроме того, фосфорилирование H3Ser10, начинающееся в прицентромерных районах, распространяющееся на плечи хромосом в метафазе I и наблюдаемое только в прицентромерных районах в метафазе II мейоцитов, согласуется с изменениями когезии сестринских хроматид, а не с конденсацией хромосом (Kaszas, Cande, 2000; Manzanero et al., 2000). Однако фосфорилирование гистона H3 не может в полной мере отвечать за когезию

хроматид, поскольку взаимосвязь между ними не является совершенной: оба процесса начинаются и заканчиваются не одновременно. Например, сестринские хроматиды разделяются в анафазе митоза, а фосфорилирование исчезает только в телофазе. Также в первом делении мейоза когезия сестринских хроматид наблюдается в лептотене, однако может изменяться в зиготене и к началу анафазы I почти полностью отсутствует (Cai et al., 2003). По этой же причине фосфорилирование не может отвечать за инициацию когезии (Kaszas, Cande, 2000).

Согласно Kaszas и Cande (2000), фосфорилирование может участвовать в регуляции или поддержании когезии в центральных районах. При изучении мутантов кукурузы *afd1* (*absence of first division 1* – ген, кодирующий мейоз-специфичный когезин Rec8), в первом делении мейоза которых образуется 20 унивалентов, авторы отмечали разделение сестринских хроматид в анафазе I, так же как при митотическом делении. Когда хромосомы образуют метафазную пластинку, фосфорилирование наблюдается только в прицентромерных районах, в то время как во втором делении мейоза на индивидуальных сестринских хроматидах сигнал иммулокализации антител к фосфорилированному гистону H3 отсутствует (Kaszas, Cande, 2000). Участие фосфорилирования в когезии центральных районов подтверждается также работой на *C. strigilatum*, для которого авторы показали прицентромерную локализацию иммунофлюоресцентного сигнала антител к pH3Ser10 как в митозе, так и в двух делениях мейоза (Fernandes et al., 2008).

pH3Ser10 – эпигенетический маркер активной центромеры

Связь фосфорилирования H3Ser10 с активностью центромер была отмечена в нескольких работах по изучению полудицентрических (Houben et al., 1999) и дицентрических хромосом (Han et al., 2006; 2009; Gao et al., 2011; Zhang et al., 2013). В исследуемых полудицентрических и дицентрических хромосомах присутствует только одна активная центромера, несмотря на наличие традиционных последовательностей центромерной ДНК в обеих центромерах (Tu/*gypsy* ретроэлементов ячменя или 156 п. о. сателлитных tandemных повторов и ретротранспозонов CRM кукурузы). Полудицентрические хромосомы 5³ ячменя линии T3-5u были образованы при реципрокной транслокации с точками разрыва в области центромеры хромосомы 3 и длинного плеча хромосомы 5. Отсутствие нарушений в митозе указывало на активность только одной из центромер. Только центромера хромосомы 5, образующая более четкую первичную перетяжку, чем частичная (с низким числом копий центромерных последовательностей) центромера хромосомы 3, имела четкий сигнал локализации антител к фосфорилированному гистону H3. Кроме того, в профазе митоза насчитывалось только 14 сигналов, соответствующих количеству активных центромер в клетке (Houben et al., 1999).

Дицентрические хромосомы кукурузы (*Z. mays*) T1-5 были получены в результате транслокации между А-хромосомами 1 и 5, с захватом центромеры между точками разрыва (Gao et al., 2011). Авторы показали, что только в месте первичного сужения, соответствующего

активной центромере, наблюдалось наличие сигналов CENP-C и pHH3Ser10. Второй кластер центромерных последовательностей не имел сигналов локализации антител к CENP-C и pHH3Ser10 (Gao et al., 2011). Хромосомы кукурузы Dic-15 (Han et al., 2006, 2009) и sDic-15 (Zhang et al., 2013) содержат две центромеры В хромосом, и только одна из них активна и фосфорилирована по гистону H3Ser10. Активность данной центромеры подтверждалась наличием сигнала локализации антител к CENH3, а также других, свойственных для активной центромеры, модификаций, таких как pHH2AThr133 и pHH3Thr3 (Zhang et al., 2013). Независимо от того, происходили ли неактивные центромеры от А- или В-хромосом, фосфорилирование гистонов происходило только по активным центромерам.

С другой стороны, в анафазе второго деления мейоза у гаплоидной и 5RL моносомно дополненной линий пшеницы (*T. aestivum*) Manzanero с соавторами (2000) наблюдали наличие отстающих одиночных хроматид без иммунофлуоресцентного сигнала pHH3Ser10 в области центромеры, которые были связаны с микротрубочками веретена. Сходные результаты были получены и для задерживающихся В-хроматид во втором делении мейоза у растений ржи (Manzanero et al., 2000). Согласно выводам авторов, фосфорилирование не определяло способность кинетохор связываться с микротрубочками веретена.

И когезия, и функциональная активность центромерных районов направлены на осуществление сегрегации хромосом в первом делении мейоза и сестринских хроматид в митозе и мейозе II. Связь фосфорилирования с сегрегацией центромер в митозе была показана при анализе межродовых пшенично-пырейных гибридов (Brasileiro-Vidal et al., 2005). У потомков 5-го и 7-го поколений от самоопыления дважды беккроссированных пшенично-пырейных гибридов (*T. aestivum* × *Thinopyrum ponticum*) Brasileiro-Vidal с соавторами (2005) наблюдали отклонение в фосфорилировании H3Ser10 в клетках с различными аномалиями. Фосфорилирование гистона H3 в митозе гибридов *T. aestivum* × *Th. ponticum* начиналось в профазе, в метафазе сигнал был виден на всех хромосомах и центрических фрагментах хромосом в области прицентромерного хроматина. В анафазе прицентромерные районы по-прежнему были сильно фосфорилированы по гистону H3, однако в некоторых клетках на хроматидах, задерживающихся в экваториальной плоскости, сигнал не наблюдался. В телофазе фосфорилирование полностью исчезало. Исходя из полученных данных, авторы предположили, что отсутствие фосфорилирования гистона H3 связано с функциональными нарушениями центромерного района, что отражается на сегрегации хроматид в анафазе (Brasileiro-Vidal et al., 2005).

Роль киназ в регуляции фосфорилирования гистона H3

По сравнению с детальным анализом кандидатов киназ и других белков, связанных с модификациями гистона H3 у животных, существует мало сообщений касательно растений. К настоящему моменту у растений были клонированы только три консервативные киназы, Haspin, Aurora (включая AtAurora1, 2 и 3) и BRK1 (Wang et al., 2012; Zhang et al., 2014). Однако связь с pHH3Ser10 по-

казана только для Aurora и BRK1 киназ. Haspin-киназа арабидопсиса (*A. thaliana*) фосфорилирует гистон H3 по Thr3 и Thr11 (Kurihara et al., 2011).

Для *A. thaliana* в литературе описаны три гена Ser/Thr-протеинкиназ семейства Ауорога: *AtAurora1*, *AtAurora2* и *AtAurora3*, которые активно транскрибируются в тканях, содержащих множество делящихся клеток (Demidov et al., 2005, Kawabe et al., 2005). Специфичную локализацию рекомбинантных белков AtAuroga, меченных флюорохромом GFP, наблюдали на динамичных митотических структурах, микротрубочках веретена и центромерах, а также на формирующейся клеточной пластинке в делящихся ВУ-2 клетках табака (*N. tabacum*) (Demidov et al., 2005). С помощью ИФА было установлено совпадение сигналов локализации антител к AtAurora1 с pHH3Ser10 в центромерах метафазных хромосом растений *V. faba* (с большими хромосомами). Сигнал располагался в прицентромерной области между кинетохорами гомологичных хромосом, однако фосфорилирование захватывало небольшой участок плеч хромосом, где не детектировалась киназа Aurora1 (Demidov et al., 2005). Для AtAUR3 была показана центромерная локализация начиная с профазы митоза и до ранней анафазы в ВУ-2 клетках табака. В поздней анафазе сигнал локализации антител к AtAUR3 наблюдали по всей длине хромосом, что соответствовало митотической картине распределения фосфорилирования H3Ser10 (Kawabe et al., 2005).

Для растений связь киназ Ауорога с фосфорилированием H3Ser10 показана как *in vitro* (Demidov et al., 2005; Kawabe et al., 2005), так и *in vivo* (Kurihara et al., 2006). При анализе активности AtAurora1 киназы *in vitro* Демидов с коллегами (Demidov et al., 2005) наблюдали преимущественное фосфорилирование гистона H3 по Ser10, но не по Ser28 или Thr3, 11 или 32. У растений арабидопсиса, кроме AtAUR1, киназную активность в отношении фосфорилирования H3Ser10 *in vitro* проявляли также AtAUR2 и AtAUR3 (Kawabe et al., 2005). При обработке клеток ВУ-2 табака гесперадином (hesperadin), который ингибирует Ауорога-киназу 3 *A. thaliana* (AtAUR3), были обнаружены снижение уровня pHH3Ser10 и pHH3Ser28, а также аномальная сегрегация митотических хромосом (Kurihara et al., 2006). У растений риса (*Oryza sativa*) для нормальной локализации Ауорога-киназы до начала метафазы I предположительно необходима киназа BRK1 (Bub1-related kinase 1) (Wang et al., 2012). Этот вывод авторы сделали исходя из двух характеристик мейоза у мутантов риса *brk-1*: во время диакинеза pHH3Ser10 в области центромеры отсутствует, а в метафазе I значительно снижается биполярное натяжение между кинетохорами гомологичных хромосом. Так как в первом и втором случаях необходимо нормальное функционирование Ауорога-киназы, то инактивация киназы BRK1, вероятно, вызывает аномальную локализацию Ауорога-киназы до начала метафазы I.

Дефосфорилирование, так же как и фосфорилирование, играет большую роль в клеточном цикле. Дефосфорилирование гистона H3 растений связано с аналогами фосфатаз PP2A (дефосфорилирует когезин, объединяясь в комплекс SGO-PP2A) и PP1 животных. У растений ячменя (*H. vulgare*), бобов (*V. faba*) и ржи (*S. cereale*) высокий уровень pHH3Ser10 вдоль плеч хромосом выяв-

ляли в митозе после обработки растений кантаридином, который является специфическим ингибитором фосфатаз, таких как PP2A и PP1 (Manzanero et al., 2002). Распределение сигнала pH3Ser10 при обработке кантаридином было аналогично картине фосфорилирования хромосом в первом делении мейоза у растений, однако отсутствие дефосфорилирования не приводило к серьезным нарушениям клеточного деления, поскольку среди анализируемых наблюдались клетки с нормальными анафазами и телофазами (Manzanero et al., 2002).

Для *A. thaliana* было доказано существование связи PP2A с дефосфорилированием pH3Ser10. Кроме того, для растений данного вида было установлено, что белки NRPs (NAP-родственные белки) являются потенциальными регуляторами дефосфорилирования pH3Ser10 (Biró et al., 2012). NRP_S – растительные ортологи белка SET/I₂^{PP2A}, который является ингибитором PP2A-опосредованного дефосфорилирования pH3Ser10 в клетках животных. Было показано, что NRP1 арабидопсиса ингибирует активность иммунопреципитированного PP2A *in vitro* и взаимодействует с каталитической субъединицей PP2A *in vivo* (Biró et al., 2012). Исходя из этих данных, можно предположить, что динамика фосфорилирования H3Ser10 в митозе растений связана с BRK1-опосредованной активностью киназы Aurora и NRP-контролируемой активностью фосфатазы PP2A.

Фосфорилирование гистона H3Ser10 у растений связано непосредственно с процессами деления клетки, так как оно не наблюдается в интерфазе, а начинается в профазе, достигает максимума в метафазе и исчезает в телофазе как в митозе, так и в обоих делениях мейоза. Небольшие отличия могут наблюдаться во времени начала фосфорилирования (ранняя или поздняя профаза), а также в активности дефосфорилирования (анафаза – телофаза). Для митоза и второго деления мейоза характерно фосфорилирование прицентромерных районов, а для первого деления мейоза – по всей длине хромосом. Однако у этой закономерности существует несколько исключений. Так, у растений с голоцентрическими хромосомами и мхов, а также в некоторых работах на арабидопсисе и табаке отмечали распространение фосфорилирования H3Ser10 на всю длину хромосом. Кроме того, у *C. strigilatum* pH3Ser10 наблюдали только в прицентромерной области как в первом, так и во втором делениях мейоза.

Несмотря на существенные различия в картине и незначительные отличия в динамике фосфорилирования хромосом, можно предположить, что фосфорилирование H3Ser10 для большинства растений тесно связано с когезией и функциональной активностью центромеры, которые в комплексе необходимы для правильной сегрегации хромосом в митозе и мейозе. Накопленные в настоящее время данные позволяют предположить, что фосфорилирование H3Ser10 связано с сегрегацией центромер гомологов в первом делении мейоза и сестринских центромер в митозе и во втором делении мейоза. Отсутствие сигналов pH3Ser10 во втором делении мейоза на задерживающихся В-хроматидах ржи и одиночных хроматидах гаплоидной пшеницы подтверждает данное предположение, поскольку разделение хромосом произошло еще в мейозе I. Кроме того, для растений установ-

лена связь сегрегации сестринских центромер в митозе с Aurora-зависимым фосфорилированием H3Ser10.

Наличие разнящихся данных относительно фосфорилирования H3Ser10 на плечах хромосом позволяет сделать предположение, что функция данной модификации может отличаться у разных видов растений. Фосфорилирование плеч хромосом в мейозе, вероятнее всего, связано с когезией сестринских хроматид, необходимой для правильного разделения гомологичных хромосом. Наблюдаемое у видов с голоцентрическими хромосомами распространение pH3Ser10 на плечи хромосом связано с их морфологическими особенностями и относится к фосфорилированию прицентромерных областей. Возможно, у мхов и некоторых видов сосудистых растений фосфорилирование H3Ser10 сохранило связь с конденсацией хромосом, как у животных и инфузорий. Однако для подтверждения этого предположения необходимы дальнейшие исследования в данной области. Кроме того, несмотря на большое количество работ, связанных с исследованием фосфорилирования H3Ser10, еще очень мало известно о белках, отвечающих за регуляцию его динамики у растений, что также требует дальнейшего изучения.

Acknowledgments

The authors are grateful to the staff of the Shared Access Center, SB RAS, for microscopic examination of biological objects.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 13-04-00679a, and State Contract 0324-2015-0005.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Biró J., Farkas I., Domoki M., Ötvös K., Bottka S., Dombrádi V., Fehér A. The histone phosphatase inhibitory property of plant nucleosome assembly protein-related proteins (NRPs). *Plant Physiol. Biochem.* 2012;52:162-168. DOI 10.1016/j.plaphy.2011.12.010
- Brasileiro-Vidal A.C., Brammer S., Puertas M.J., Zanatta A.C., Prestes A., Moraes-Fernandes M.I.B., Guerra M. Mitotic instability in wheat × *Thinopyrum ponticum* derivatives revealed by chromosome counting, nuclear DNA content and histone H3 phosphorylation pattern. *Plant Cell Rep.* 2005;24:172-178. DOI 10.1007/s00299-005-0913-4
- Cai X., Dong F., Edelmann R.E., Makaroff C.A. The Arabidopsis SYN1 cohesin protein is required for sister chromatid arm cohesion and homologous chromosome pairing. *J. Cell Sci.* 2003;116(14):2999-3007. DOI 10.1242/jcs.00601
- Caperta A.D., Rosa M., Delgado M., Karimi R., Demidov D., Viegas W., Houben A. Distribution patterns of phosphorylated Thr 3 and Thr 32 of histone H3 in plant mitosis and meiosis. *Cytogenet. Genome Res.* 2008;122:73-79. DOI 10.1159/000151319
- Cobb J., Miyaike M., Kikuchi A., Handel M.A. Meiotic events at the centromeric heterochromatin: histone H3 phosphorylation, topoisomerase IIa localization and chromosome condensation. *Chromosoma.* 1999;108:412-425. DOI 10.1007/s004120050393
- Demidov D., Schubert V., Kumke K., Weiss O., Karimi-Ashtiyani R., Buttler J., Heckmann S., Wanner G., Dong Q., Han F., Houben A. Antiphosphorylated histone H2AThr120: a universal microscopic marker for centromeric chromatin of mono- and holocentric plant species. *Cytogenet. Genome Res.* 2014;143:150-156. DOI 10.1159/000360018
- Demidov D., VanDamme D., Geelen D., Blattner F.R., Houben A. Identification and dynamics of two classes of Aurora-like kinases

- in Arabidopsis and other plants. *Plant Cell*. 2005;17:836-848. DOI 10.1105/tpc.104.029710
- Dong Q., Han F. Phosphorylation of histone H2A is associated with centromere function and maintenance in meiosis. *Plant J*. 2012;71:800-809. DOI 10.1111/j.1365-313X.2012.05029.x
- Feitoza L., Guerra M. Different types of plant chromatin associated with modified histones H3 and H4 and methylated DNA. *Genetica*. 2011;139:305-314. DOI 10.1007/s10709-011-9550-8
- Fernandes T., Yuyama P.M., Moraes A.P., Vanzela A.L. An uncommon H3/Ser10 phosphorylation pattern in *Cestrum strigilatum* (Solanaceae), a species with B chromosomes. *Genome*. 2008;51(9):772-777. DOI 10.1139/G08-042
- Fuchs J., Demidov D., Houben A., Schubert I. Chromosomal histone modification patterns – from conservation to diversity. *Trends Plant Sci*. 2006;11(4):199-208. DOI 10.1016/j.tplants.2006.02.008
- Gao Z., Fu S., Dong Q., Han F., Birchler J.A. Inactivation of a centromere during the formation of a translocation in maize. *Chromosome Res*. 2011;19:755-761. DOI 10.1007/s10577-011-9240-5
- Gernand D., Demidov D., Houben A. The temporal and spatial pattern of histone H3 phosphorylation at serine 28 and serine 10 is similar in plants but differs between mono- and polycentric chromosomes. *Cytogenet. Genome Res*. 2003;101:172-176. DOI 10.1159/000074175
- Guerra M., Brasileiro-Vidal A.C., Arana P., Puertas M.J. Mitotic microtubule development and histone H3 phosphorylation in the holocentric chromosomes of *Rhynchospora tenuis* (Cyperaceae). *Genetica*. 2006;126:33-41. DOI 10.1007/s10709-005-1430-7
- Guo X.W., Th'ng J.R.H., Swank R.A., Anderson H.J., Tudan C., Bradbury E.M., Roberge M. Chromosome condensation induced by fostriecin does not require p34Cdc2 kinase activity and histone H1 hyperphosphorylation, but is associated with enhanced histone H2A and H3 phosphorylation. *EMBO J*. 1995;14(5):976-985.
- Han F., Gao Z., Birchler J.A. Reactivation of an inactive centromere reveals epigenetic and structural components for centromere specification in maize. *Plant Cell*. 2009;21:1929-1939. DOI 10.1105/tpc.109.066662
- Han F., Lamb J.C., Birchler J.A. High frequency of centromere inactivation resulting in stable dicentric chromosomes of maize. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2006;103:3238-3243. DOI 10.1073/pnas.0509650103
- Henzel M.J., Wei Y., Mancini M.A., Van Hooser A., Ranalli T., Brinkley B.R., Bazett-Jones D.P., Allis C.D. Mitosis specific phosphorylation of histone H3 initiates primarily within pericentromeric heterochromatin during G2 and spreads in an ordered fashion coincident with mitotic chromosome condensation. *Chromosoma*. 1997;106:348-360. DOI 10.1007/s004120050256
- Houben A., Demidov D., Caperta A.D., Karimi R., Agueci F., Vlasenko L. Phosphorylation of histone H3 in plants—A dynamic affair. *Bioch. Biophys. Acta*. 2007;1769:308-315. DOI 10.1016/j.bbaexp.2007.01.002
- Houben A., Demidov D., Ruttana T., Scheidtmann K.H. Novel phosphorylation of histone H3 at threonine 11 that temporally correlates with condensation of mitotic and meiotic chromosomes in plant cells. *Cytogenet. Genome Res*. 2005;109:148-155. DOI 10.1159/000082394
- Houben A., Wako T., Furushima-Shimogawara R., Presting G., Kunzel G., Schubert I., Fukui K. Short communication: the cell cycle dependent phosphorylation of histone H3 is correlated with the condensation of plant mitotic chromosomes. *Plant J*. 1999;18:675-679.
- Ito T. Role of histone modification in chromatin dynamics. *J. Biochem*. 2007;141:609-614. DOI 10.1093/jb/mvm091
- Kaszas E., Cande W.Z. Phosphorylation of histone H3 is correlated with changes in the maintenance of sister chromatid cohesion during meiosis in maize, rather than the condensation of the chromatin. *J. Cell Sci*. 2000;113:3217-3226.
- Kawabe A., Matsunaga S., Nakagawa K., Kurihara D., Yoneda A., Hasezawa S., Uchiyama S., Fukui K. Characterization of plant Aurora kinases during mitosis. *Plant Mol. Biol*. 2005;58:1-13. DOI 10.1007/s11103-005-3454-x
- Kurihara D., Matsunaga S., Kawabe A., Fujimoto S., Noda M., Uchiyama S., Fukui K. Aurora kinase is required for chromosome segregation in tobacco BY-2 cells. *Plant J*. 2006;48:572-580. DOI 10.1111/j.1365-313X.2006.02893.x
- Kurihara D., Matsunaga S., Omura T., Higashiyama T., Fukui K. Identification and characterization of plant Haspin kinase as a histone H3 threonine kinase. *BMC Plant Biol. Database*. 2011. DOI 10.1186/1471-2229-11-73
- Li Y., Butenko Y., Graf G. Histone deacetylation is required for progression through mitosis in tobacco cells. *Plant J*. 2005;41:346-352. DOI 10.1111/j.1365-313X.2004.02301.x
- Manzanero S., Arana P., Puertas M.J., Houben A. The chromosomal distribution of phosphorylated histone H3 differs between plants and animals at meiosis. *Chromosoma*. 2000;109:308-317. DOI 10.1007/s004120000087
- Manzanero S., Rutten T., Kotseruba V., Houben A. Alterations in the distribution of histone H3 phosphorylation in mitotic plant chromosomes in response to cold treatment and the protein phosphatase inhibitor cantharidin. *Chromosome Res*. 2002;10:467-476. DOI 10.1023/A:1020940313841
- Marcon-Tavares A.B., Felinto F., Feitoza L., Barros e Silva A.E., Guerra M. Different patterns of chromosomal histone H3 phosphorylation in land plants. *Cytogenet. Genome Res*. 2014;143:136-143. DOI 10.1159/000364815
- Oliver C., Pradillo M., Corredor E., Cunado N. The dynamics of histone H3 modifications is species-specific in plant meiosis. *Planta*. 2013;238:23-33. DOI 10.1007/s00425-013-1885-1
- Paula C.M.P., Techio V.H., Souza Sobrinho F., Freitas A.S. Distribution pattern of histone H3 phosphorylation at serine 10 during mitosis and meiosis in *Brachiaria* species. *J. Genetics*. 2013;92(2):259-266. DOI 10.1007/s12041-013-0261-z
- Pedrosa A., Jantsch M.F., Moscone E.A., Ambros P.F., Schweizer D. Characterisation of pericentromeric and sticky intercalary heterochromatin in *Ornithogalum longibracteatum* (Hyacinthaceae). *Chromosoma*. 2001;110:203-213. DOI 10.1007/s004120000125
- Schroeder-Reiter E., Houben A., Wanner G. Immunogold labeling of chromosomes for scanning electron microscopy: A closer look at phosphorylated histone H3 in mitotic metaphase chromosomes of *Hordeum vulgare*. *Chromosome Res*. 2003;11:585-596. DOI 10.1023/A:1024952801846
- Sveshnikov P.G., Malaytsev V.V., Bogdanova I.M., Solopova O.N. Vvedenie v molekulyarnuyu immunologiyu i gibriddomnuyu tekhnologiyu [Introduction into Molecular Immunology and Hybridoma Technology]. Moscow, Moscow State Univ. Publ., 2006.
- Wallace W., Schaefer L.H., Swedlow J.R. Artifacts and aberrations in deconvolution analysis. Olympus Microscopy Resource Center. 2012. available at <http://www.olympusmicro.com/primer/digitalimaging/deconvolution/deconartifacts.html>
- Wang F., Higgins J.M.G. Histone modifications and mitosis: countermarks, landmarks, and bookmarks. *Trends Cell Biol*. 2013;23(4):175-184. DOI 10.1016/j.tcb.2012.11.005
- Wang W., Tang D., Luo Q., Jin Y., Shen Y., Wang K., Cheng Z. BRK1, a Bub1-related kinase, is essential for generating proper tension between homologous kinetochores at metaphase I of rice meiosis. *Plant Cell*. 2012;24:4961-4973. DOI 10.1105/tpc.112.105874
- Wei Y., Mizzen C.A., Cook R.G., Gorovsky M.A., Allis D.C.D. Phosphorylation of histone H3 at serine 10 is correlated with chromosome condensation during mitosis and meiosis in *Tetrahymena*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1998;95:7480-7484.
- Wei Y., Yu L., Bowen J., Gorovsky M.A., Allis C.D. Phosphorylation of histone H3 is required for proper chromosome condensation and segregation. *Cell*. 1999;97:99-109. DOI 10.1016/S0092-8674(00)80718-7
- Zhang B., Dong Q., Su H., Birchler J.A., Han F. Histone phosphorylation: its role during cell cycle and centromere identity in plants. *Cytogenet. Genome Res*. 2014;143:144-149. DOI 10.1159/000360435
- Zhang B., Lv Z., Pang J., Liu Y., Guo X., Fu S., Li J., Dong Q., Wu H-J., Gao Z., Wang X-J., Hana F. Formation of a functional maize centromere after loss of centromeric sequences and gain of ectopic sequences. *Plant Cell*. 2013;25:1979-1989. DOI 10.1105/tpc.113.110015