

УДК 575:57.052:577

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ГЕНЕТИКИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

© 2013 г. Л.А. Лутова

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия,
e-mail: la.lutova@gmail.com

Поступила в редакцию 22 апреля 2013 г. Принята к публикации 1 ноября 2013 г.

ВВЕДЕНИЕ

Генетика развития изучает процесс реализации генетической информации в ходе индивидуального развития, т. е. путь от гена к признаку. Развитие организма включает в себя такие понятия, как рост и дифференцировка. Рост – это количественные, а дифференцировка – качественные изменения в организме. Дифференцировка может осуществляться на всех уровнях организации – клеточном, тканевом, органном. Органный уровень дифференцировки часто обозначают термином «морфогенез».

Большой вклад в создание основ генетики развития внесли отечественные ученые. Несомненная роль в развитии этой науки принадлежит М.Е. Лобашеву, Н.К. Кольцову, Б.Л. Астаурову, Н.В. Тимофееву-Ресовскому. На первых этапах своего существования, в 20–50-е годы XX в., генетика развития носила описательный характер, отвечала на вопрос: как выглядит объект и носила название «феногенетика». С 60-х годов XX в. начался новый этап генетики развития, который можно обозначить как «молекулярно-генетический», позволивший отвечать на вопрос: почему так выглядит объект. Сегодня благодаря реализации геномных проектов и развитию новых методов проведения исследований, начали открываться молекулярно-генетические механизмы развития многоклеточных организмов.

Основная задача генетики развития – расшифровка программ развития, т. е. изучение молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе принципов управления онтогенезом. На сегодняшний день можно выделить 6 основных проблем генетики развития.

1. Изучение генетического контроля онтогенеза. Эта проблема занимает центральное место и является чисто генетической. Для ее решения необходимо: 1) выявить гены, контролируемые этапы и уровни онтогенеза; 2) изучить функцию выявленных генов; 3) выяснить иерархию (последовательность) действия генов с помощью анализа генов взаимодействия; построить схему (генную сеть) регуляции процессов развития.

2. Изучение генетического контроля сигнальных путей, т. е. механизмов восприятия и передачи внешних и внутренних сигналов. Проблема включает в себя изучение сигнальных путей, обеспечивающих координацию развития с условиями внешней среды, выявление генов, контролируемых компоненты сигнальных путей, и установление их функции на уровне организма с помощью физиологических и биохимических методов.

3. Изучение генетических механизмов дифференциальной регуляции действия генов в онтогенезе. Эта проблема решается генетиками вместе с молекулярными биологами. Если молекулярные биологи изучают уровни и механизмы регуляции экспрессии генов (транскрипционный, посттранскрипционный, трансляционный и пр.), то генетики выявляют гены, которые участвуют в этой регуляции, в том числе и те, которые являются компонентами сигнальных путей и опосредуют регуляцию развития факторами внешней и внутренней среды. Важной задачей является выявление регуляторных участков генов (цис-регуляторных элементов), обуславливающих специфичность экспрессии.

4. Изучение генетических механизмов, контролируемых взаимодействие клеток и тканей

(клональный анализ). Взаимодействия клеток основаны на обмене определенными индуктивными сигналами, поэтому основной задачей клонального анализа является выявление генов, контролирующих образование сигналов, а также генов, которые обеспечивают перемещение сигналов между клетками.

5. Изучение генетических основ регуляции развития растений фитогормонами. Изучение генетических механизмов действия регуляторов роста растений, в том числе фитогормонов, является одним из основных разделов генетики развития растений.

Фитогормоны являются основными эндогенными сигналами, регулирующими развитие растений. Это небольшие мобильные молекулы, легко перемещающиеся между органами растения или даже от одного растения к другому (например газообразные гормоны: этилен, эфиры жасмоновой кислоты).

Основными свойствами фитогормонов являются:

- Способность влиять на процессы жизнедеятельности и развитие растений в очень низких концентрациях.

- Наличие собственного рецептора, специфически связывающего данный фитогормон. В ряде случаев для одного фитогормона имеется несколько рецепторов.

- Наличие собственной системы передачи сигнала, работа которой активируется при связывании гормона с рецептором.

- Способность специфически влиять на экспрессию генов.

Фактически каждый этап морфогенеза растений – от ранних этапов эмбриогенеза до цветения и завязывания семян – находится под влиянием фитогормонов. В контроле большинства морфогенетических процессов фитогормоны взаимодействуют между собой, при этом они могут быть как синергистами, так и антагонистами. Тем не менее у каждого фитогормона имеется «своя область действия» – процесс, в контроле которого этот гормон играет основную роль.

6. Изучение генетических основ эволюции онтогенеза. К решению проблемы эволюционной биологии онтогенеза генетики обратились совсем недавно. Это стало возможным благодаря успехам в изучении генетики развития модельных объектов, на которых были выяв-

лены ключевые регуляторы развития растений. Открытия, сделанные на модельных объектах, создали возможность для поиска и изучения структуры и функции гомологичных генов развития у других видов растений.

В зависимости от задачи исследования к модельным объектам предъявляют разные требования, но основные являются общими для всех. Обязательными условиями являются половое размножение, диплоидность, высокая плодовитость, наличие генетических коллекций, наличие генетических и молекулярных карт, высокая способность к регенерации и трансформации, наличие транспозонов, небольшой по размеру геном. В последние десятилетия излюбленным объектом во многих лабораториях мира стала резушка Таля, или арабидопсис (*Arabidopsis thaliana*), – растение, которое обладает всеми вышеперечисленными качествами (Ежова и др., 2003).

ОСОБЕННОСТИ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ КАК ОБЪЕКТА ГЕНЕТИКИ РАЗВИТИЯ

Особенности генетики развития растений связаны, прежде всего, с уникальными особенностями их строения и жизненной стратегии (Лутова и др., 2010).

Для развития растения крайне важную роль играют факторы внешней среды. Их множество: свет, направление вектора силы тяжести, контакт с микроорганизмами и т. д. Возможность координировать развитие с внешними воздействиями – основной фактор выживания, и это особенно актуально для растений, так как они ведут прикрепленный образ жизни. В результате этой особенности в эволюции растений выработалась собственная жизненная стратегия – сохранение высокого уровня адаптации за счет множества механизмов (программ) защиты, которые реализуются в онтогенезе. Результаты расшифрованного генома арабидопсиса свидетельствуют о том, что около 5 % всех генов вовлечены в обеспечение защитных реакций. Так, в реализации программ защиты от биотических и абиотических факторов у арабидопсиса участвуют 32 % генов, контролирующих вторичный метаболизм, среди которых, например, гены биосинтеза фитоалексинов, которые обеспечивают неспецифический иммунитет растений (рис. 1).

По сравнению с животными растение организовано просто. Так, у животных описано более 100 типов клеток, а у растений – не более 40; у животных 4 основных типа тканей, а у растений – 3 (отсутствует нервная ткань). Для растений характерно модульное строение организма: например, модуль надземной части растения включает в себя лист, междоузлие и боковую почку. Каждый такой модуль возникает как вздутие на апикальной меристеме побега на определенном расстоянии от другого модуля, его возникновение и развитие зависят от градиента концентрации фитогормонов. Совокупность модулей определяет структуру растения, поэтому растение часто сравнивают с колонией.

Еще одна особенность, отличающая развитие растений от развития животных, – отсутствие миграции клеток вследствие наличия жесткой клеточной стенки. В связи с этим для растений характерна жесткая пространственная детерминация: клетка растения в течение всего онтогенеза «остается на одном месте», и ошибку дифференцировки может компенсировать, например, за счет скорости и направления деления. У растений описано два типа деления клеток – антиклинальное (перпендикулярно поверхности) и периклинальное (параллельно поверхности); первый тип увеличивает число клеток в слое, второй – число слоев клеток в

ткани. Сочетание разных типов деления клеток, а также направленный рост клетки определяют развитие отдельных тканей и органов растения.

К особенностям развития высших растений также следует отнести морфогенез в течение всей жизни (а не только в процессе эмбриогенеза, как у животных). У животных репродуктивные и соматические органы закладываются в раннем эмбриогенезе, т. е. для них характерно наличие зародышевой линии. У растений зародышевая линия отсутствует, у них нет специализированных клеток для формирования генеративных органов. «Растянность» морфогенеза растений во времени определяется наличием меристем – образовательных тканей, которые являются резервуаром стволовых клеток.

Наибольший вклад в формирование растительного организма вносят апикальные меристемы побега и корня (ПАМ и КАМ), обеспечивающие рост надземной и подземной частей растения и формирование тканей стебля и корня, а также латеральные меристемы – прокамбий, камбий и перицикл. Поскольку способность к делению сохраняется у многих дифференцированных клеток растений, не потерявших ядро, в постэмбриональном развитии могут формироваться вторичные меристемы: пробковый камбий, меристемы клубеньков у



Рис. 1. Распределение генов *Arabidopsis thaliana* в соответствии с выполняемыми ими функциями (модифицировано по: (The Arabidopsis Genome Initiative ..., 2000. P. 796–815)).

бобовых и т. д. Апикальные меристемы (ПАМ и КАМ) устроены по сходному плану: они содержат пул стволовых клеток в центральной части и дифференцирующиеся клетки на периферии, которые дают начало разным типам тканей (Stahl, Simon, 2010). Необходимым структурным элементом апикальных меристем является организующий, или покоящийся, центр (ОЦ ПАМ или ПЦ КАМ) – небольшая группа клеток, которая является источником сигнала, ингибирующего дифференцировку стволовых клеток (рис. 2).

Безусловно, важной особенностью растений является тотипотентность клеток – т. е. способность воссоздать новый организм практически из любой клетки. Тотипотентность растительных клеток – фактор, который определяет способность к регенерации, а потому лежит в основе методов генной и клеточной инженерии. Способность к регенерации является основой вегетативного размножения растений, а также важным фактором адаптационного потенциала, обеспечивающего выживание растений в стрессовых условиях.

Таким образом, уникальность строения растений, их жизненная стратегия предполагают и особенности регуляции развития растений.

ОСНОВНЫЕ ГРУППЫ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ РАСТЕНИЙ

Наиболее важные для развития организмов гены называют генами развития. К ним прежде всего относят гены, кодирующие транскрипционные факторы. Эти гены являются эволюционно консервативными. В настоящее время в геноме арабидопсиса идентифицировано около 2000 генов, кодирующих транскрипционные факторы (ТФ), что составляет около 7 % от общего числа генов. Транскрипционные факторы объединяют в группы (семейства) на основании сходства ДНК-связывающих доменов, а также наличия других консервативных доменов. Менее половины семейств ТФ растений являются уникальными для растений, большинство из них встречается и у представителей других царств эукариот, например у арабидопсиса выявлено около 150 уникальных транскрипционных факторов (Shiu *et al.*, 2005). Среди изученных ТФ растений ключевую роль в развитии играют семейства ТФ, содержащие MADS-домен, гомеодомен, GRAS-домен и т. д. Остановимся на характеристике наиболее значимых ТФ растений.

Транскрипционные факторы с MADS-доменом. ТФ с MADS-доменом являются важными регуляторными молекулами у растений, животных, грибов. Название MADS произошло

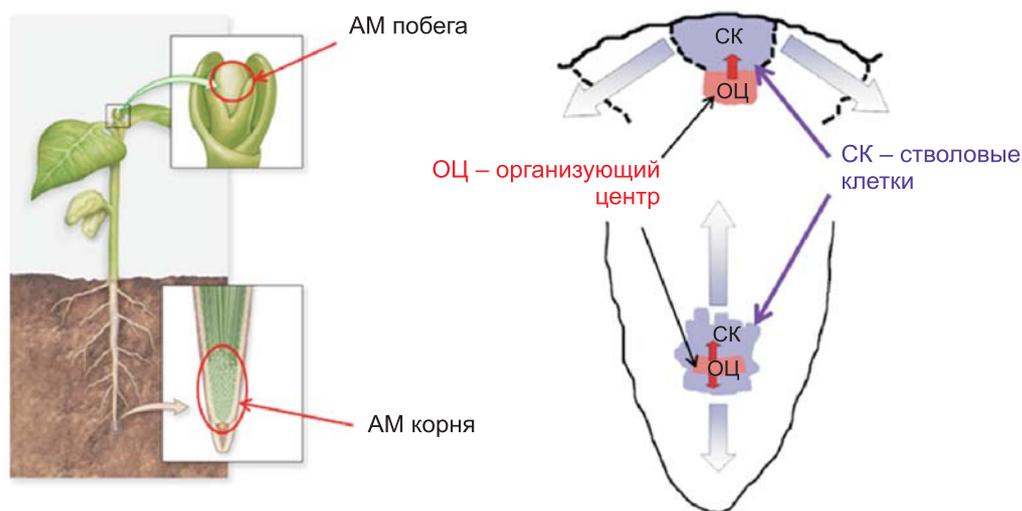


Рис. 2. Стволовые клетки и организующие центры в апикальных меристемах (АМ) побега и корня (модифицировано по: (Stahl, Simon, 2010. P. 53–58)).

от MCM1, AGAMOUS, DEFICIENS и SRF, типичных представителей ТФ этой группы у эукариот (Schwarz-Sommer *et al.*, 1990). В геноме арабидопсиса существует около 100 генов с MADS-боксом, многие из которых контролируют различные аспекты развития. Экспрессия генов с MADS-боксом регулируется специфичным образом во времени и пространстве с участием других генов или сигнальных событий. Наиболее изучена роль ТФ с MADS-доменом в развитии цветка. На модели «ABC» было показано, что взаимодействия между различными ТФ с MADS-доменом определяют идентичность органов цветка (Smaczniak *et al.*, 2012). Мутации в генах растений, кодирующих ТФ с MADS-доменом, приводят к гомеозисным заменам органов цветка (рис. 3).

Транскрипционные факторы с гомеодоменом. ТФ с гомеодоменом играют важную роль в регуляции развития эукариот. У животных гены, кодирующие ТФ с гомеодоменом, называют гомеозисными (гомеотическими), поскольку мутации в их генах приводят к гомеозису: первым изученным примером гомеозисной мутации является мутация дрозофилы *antennapedia*, при которой происходит развитие ног на месте антенн (Postlethwait, Schneiderman, 1971). У растений ТФ с гомеодоменом также играют важную роль в развитии, но, в отличие от животных, мутации в генах растений, кодирующих ТФ с гомеодоменом, не приводят к гомеозису. У растений типичными представителями семейства гомеодомен-содержащих ТФ являются ТФ семейства KNOX и WOX, функции которых заключаются

в регуляции развития и поддержании активности меристем (Hamant, Pautot, 2010) (рис. 4).

ТФ KNOX относятся к гомеодомен-содержащим ТФ надсемейства TALE (Three Amino Acid Loop Extension). В отличие от типичного гомеодомена, состоящего из 60 аминокислот, гомеодомены ТФ TALE содержат 3 дополнительные аминокислоты между первой и второй спиралью. ТФ TALE широко распространены и у животных и представлены у них 4 группами: PBC/PBX, MEIS, TGIF, IRO. У грибов также обнаружены белки TALE (в частности белки M-ATYP, определяющие тип спаривания) (Burglin, 1998). У растений надсемейство TALE представлено главным образом двумя классами KNOX (KNOTTED1-like homeobox) генов: KNOX I и KNOX II. Помимо консервативного ДНК-связывающего гомеодомена (HD) продукты *KNOX* генов содержат KNOX домен, необходимый для белок-белковых взаимодействий. Также в ТФ KNOX выделяют домен GSE (обогащенный аминокислотами Gly (G), Ser (S), Glu(E)), необходимый для регуляции стабильности белка, и домен ELK (обогащенный аминокислотами Glu (E), Leu (L), Lys(K)) с неизвестной функцией (Hay, Tsiantis, 2009). Одним из первых идентифицированных генов из данного семейства у растений был ген *KNOTTED1* кукурузы, относящийся к классу I KNOX генов (Kerstetter *et al.*, 1994). По гомологии с ним в геноме арабидопсиса выявлено несколько KNOX генов, получивших название KNAT (Knotted1-like of *Arabidopsis thaliana*) (Reiser *et al.*, 2000).

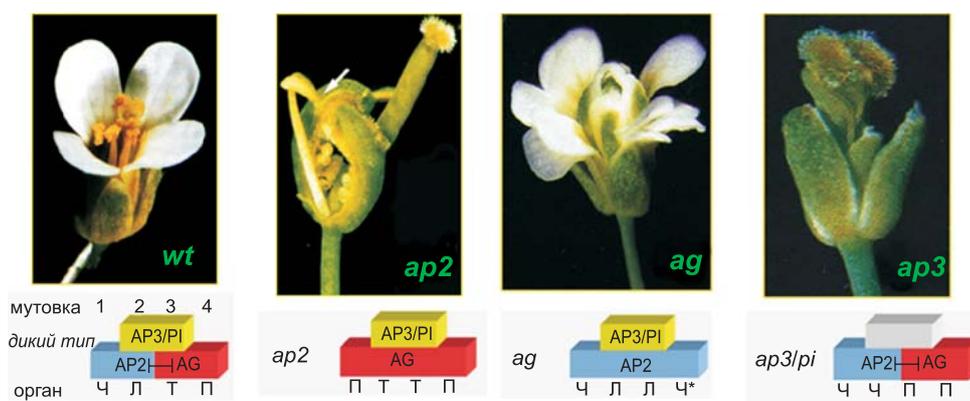


Рис. 3. Фенотипы мутантов арабидопсиса по генам, кодирующим транскрипционные факторы с MADS-доменом (по: (Krizek, Fletcher, 2005. P. 688–698)).

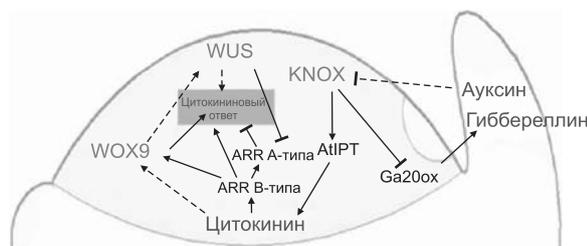


Рис. 4. Взаимодействие ТФ KNOX и WOX с фитогормонами в развитии АМ побега (по: (Лутова и др., 2010)).

ТФ семейства *WOX* представляют собой гомеодомен-содержащие ТФ с атипичным гомеодоменом, состоящим из 66 аминокислотных остатков. Наиболее хорошо охарактеризованными представителями ТФ *WOX* являются *WUSCHEL* (*WUS*) и *WOX5* (*WUSCHEL* related homeobox 5), регулирующие активность ПАМ и КАМ соответственно. У арабидопсиса семейство ТФ *WOX* включает 14 представителей (Van der Graaff *et al.*, 2009).

ТФ семейства *GRAS* содержат консервативный *GRAS*-домен, название которого произошло от первых букв типичных представителей ТФ этой группы: *GAI*, *RGA*, *SCR*. К семейству ТФ *GRAS* относятся белки *DELLA*, которые регулируют передачу сигнала гиббереллинов, ТФ *SCARECROW* (*SCR*) и *SHORTROOT* (*SHR*), контролирующие дифференцировку клеток эндодермы, и ТФ *HAIRY MERISTEM* (*HAM*), блокирующий дифференцировку клеток апикальной меристемы побега (Hirsch, Oldroyd, 2009). ТФ *GRAS* бобовых растений *MtNSP1* и *MtNSP2*, *PsSYM7* играют важную роль в развитии бобово-ризобияльного симбиоза и являются ключевыми регуляторами, индуцирующими экспрессию генов растений в ответ на сигналы, выделяемые симбиотическими почвенными бактериями ризобиями (липохитоолигосахариды *Nod*-факторы) (Heckmann *et al.*, 2006).

Итак, центральная роль в реализации программы развития, под которой понимается строго упорядоченная во времени и пространстве скоординированная экспрессия множества генов, отводится транскрипционным факторам. Каждый ТФ контролирует экспрессию существенного количества генов-мишеней.

МЕРИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ, СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ, ТФ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ АКТИВНОСТЬ МЕРИСТЕМ, И ИХ РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ РАСТЕНИЙ

В ходе развития способность к клеточным делениям сохраняется почти у всех живых зрелых тканей растений, которые, будучи тотипотентными, способны дать начало отдельному растению. При этом активная пролиферация характерна для особой популяции клеток – меристем (от греч. *meristos* – делимый). Первичными меристемами, закладывающимися в эмбриогенезе, являются апикальные меристемы (АМ) корня и побега. Из АМ побега (ПАМ) формируются надземные органы растений – стебель и листья; затем по мере развития растений ПАМ дает начало меристемам соцветия и цветка. В результате делений и дифференцировки клеток-инициалей АМ корня (КАМ) образуются основные ткани корня: эпидерма, первичная кора, проводящие ткани, а также корневой чехлик; закладка боковых корней у большинства растений происходит вне КАМ.

Для того чтобы АМ побега или корня могла постоянно продуцировать новые ткани, она должна обладать двумя основными свойствами: 1) постоянно поддерживать недифференцированное состояние и обеспечивать постоянство развития; 2) продуцировать клетки, способные к дифференцировке и формированию новых органов. Источником специализированных клеток является пул стволовых клеток меристемы, сохраняющих недифференцированный статус в центральной зоне АМ и претерпевающих дифференцировку на ее периферии, где происходит закладка органов и тканей. Способность стволовых клеток постоянно поддерживать недифференцированное состояние зависит от особой популяции клеток – организующего центра (ОЦ). Свойством клеток ОЦ является способность поддерживать собственную популяцию и подавлять дифференцировку прилежащих стволовых клеток за счет определенных сигнальных молекул, продуцируемых клетками ОЦ.

Наличие стволовых клеток, способных к возобновлению, позволяет растениям формировать новые органы в течение всего жизненного

цикла. Это отличает их от животных. У животных тотипотентными являются лишь клетки, возникающие после первых делений дробления, далее формируется бластоциста, клетки которой уже не равноценны: из отдельной клетки бластоцисты не может сформироваться нормальный зародыш. Клетки бластоцисты дают начало всем типам клеток организма, их называют плюрипотентными. По мере развития стволовые клетки специализируются и становятся способными участвовать в образовании только определенного типа клеток (такие клетки называют мультипотентными).

Несмотря на существующие различия свойств стволовых клеток, у растений и животных можно выделить общие принципы их регуляции (Sablowski, 2004). Стволовые клетки растений и животных локализируются в так называемой «нише стволовых клеток» – локальном микроокружении, поставляющем факторы, необходимые для их поддержания. Дифференцировка стволовых клеток в нише подавляется в результате действия факторов, продуцируемых клетками организующего центра. Как правило, клетки ОЦ характеризуются большей длительностью клеточного цикла, т. е. делятся с меньшей скоростью. По мере деления дочерние клетки удаляются от ОЦ, оказываясь вне зоны действия сигналов, продуцируемых этим центром, и претерпевают дифференцировку (рис. 5). Таким образом, принцип организации стволовых клеток является общим

для растений и животных, но молекулярные механизмы поддержания стволовых клеток у них принципиально различны.

АМ побега расположена на верхушке побега и прикрыта зачатками молодых листьев, АМ корня находится на кончике главного и боковых корней и отделяется от внешней среды корневым чехликом (колумеллой). В ПАМ выделяют различные морфофункциональные зоны (рис. 6). Клетки центральной зоны ПАМ (ЦЗ) делятся медленно и с постоянной скоростью, обеспечивая постоянство развития. Именно в этой зоне сосредоточены стволовые клетки ПАМ и ОЦ. ЦЗ окружена клетками периферической зоны (ПЗ), способными к дифференцировке: в результате делений клеток ПЗ формируются листовые примордии и пазушные почки. Клетки подстилающей зоны дают начало внутренним тканям побега. В КАМ ОЦ (который получил название покоящегося центра) окружен стволовыми клетками, так называемыми клетками-инициалами. Они дают начало дистальным (колумелла), латеральным (латеральная часть корневого чехлика и эпидерма) и проксимальным (кора, эндодерма и стела) тканям корня.

ТФ, контролирующие активность меристем, относятся к разным семействам. Среди них есть ТФ, встречающиеся у других групп эукариот, как, например, ТФ с гомеодоменом (семейства KNOX и WOX). Гомеодомен-содержащие ТФ группы KNOX I необходимы для закладки ПАМ в эмбриогенезе, ее дальнейшего развития и функ-

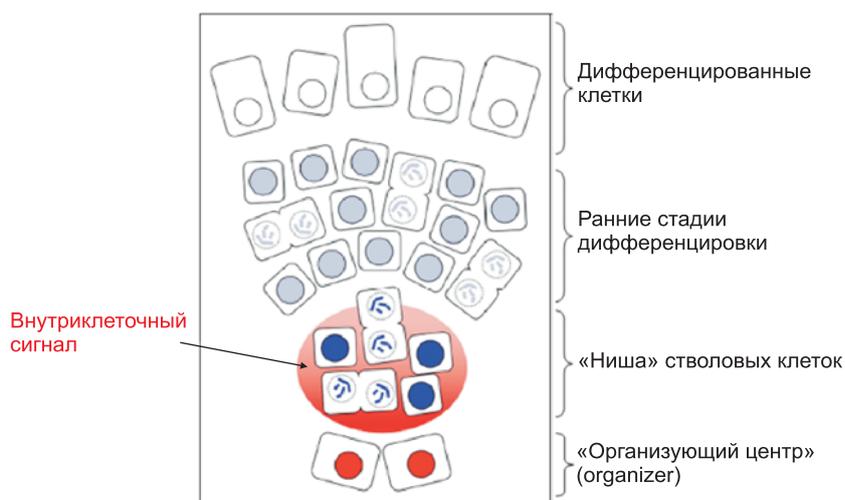


Рис. 5. Общий принцип организации «ниши» стволовых клеток (модифицировано по: (Sablowski, 2004. P. 605–611)).

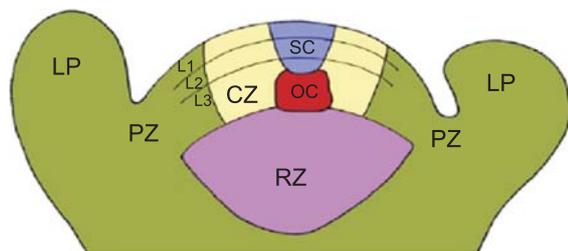


Рис. 6. Строение АМ побега (по: (Dodsworth, 2009. Р. 1–9)).

CZ (central zone) – центральная, PZ (peripheral zone) – периферическая, RZ – подстилающая зона.

ционирования. В клетках формирующегося листового примordia экспрессия генов *KNOX* подавляется. Интересно отметить, что подавление экспрессии *KNOX* генов I класса в листовом примордии характерно для арабидопсиса – растения, имеющего простые листья, но не для растений со сложными листьями, например томата (Janssen *et al.*, 1998). Изменение морфологии листа в эволюции растений связано с изменением характера экспрессии *KNOX* генов в апексе побега.

Аналогичная ситуация обнаружена и для других генов, кодирующих ТФ. Характер экспрессии генов-ортологов *LFY/FLO* (ген *LFY* контролирует переход к цветению у арабидопсиса, а *FLO* – у львиного зева) определяет тип соцветия – открытое или закрытое. Так, изменение места экспрессии гена *LFY* у трансгенных растений *35S::LFY*, где *LFY* экспрессируется в вегетативной ПАМ, приводит к ее превращению во флоральную меристему и формированию терминальных цветков (закрытию соцветия) (Krizek, Fletcher, 2005). Мутации в генах ТФ, контролирующих развитие органов цветка (*MADS*-гены), изменяющие место их экспрессии, приводят к формированию цветков разной структуры и многообразию форм цветка у растений (Theissen, Melzer, 2007).

Таким образом, анализ экспрессии генов ТФ у разных видов растений позволяет заключить, что изменение характера экспрессии основных регуляторных генов приводит к кардинальным изменениям морфологии и могло лежать в основе морфологической эволюции растений.

Несмотря на длительное изучение функций генов *KNOX* в развитии ПАМ, было идентифицировано очень небольшое количество генов-мишеней, экспрессия которых регулируется с помощью ТФ *KNOX*. Идентифицированные на сегодняшний день гены-мишени ТФ *KNOX* контролируют биосинтез двух групп гормонов, выполняющих противоположные функции в развитии ПАМ – цитокининов и гиббереллинов. ТФ *KNOX* напрямую репрессируют транскрипцию генов, кодирующих GA-2-оксидазы и GA-20-оксидазы, – ферменты, катализирующие синтез активных гиббереллинов (Sakamoto *et al.*, 2001). Напротив, экспрессия генов *IPT*, контролирующих первый этап биосинтеза цитокининов, активируется ТФ *KNOX* (Jasinsky *et al.*, 2005). Поскольку в контроле развития ПАМ цитокинины действуют в одном направлении с ТФ *KNOX*, стимулируя пролиферацию недифференцированных клеток ПАМ, а гиббереллины ингибируют пролиферацию клеток и запускают их дифференцировку, считается, что *KNOX*-зависимая регуляция биосинтеза этих гормонов, по-видимому, является основной функцией ТФ *KNOX* в развитии ПАМ (рис. 4).

Гены семейства *WOX*, кодирующие ТФ с гомеодоменом, являются ключевыми регуляторами пролиферации и дифференцировки клеток в различных типах меристем растений. Так, ген *WUS* функционирует в ПАМ, а паралог этого гена – *WOX5* – активен в КАМ (Sarkar *et al.*, 2007). Эти гены экспрессируются в ОЦ апикальных меристем, и их функция – поддержание ОЦ и подавление дифференцировки стволовых клеток. В ПАМ ТФ *WUS* напрямую подавляет экспрессию генов RR A-типа – репрессоров передачи сигнала цитокининов, таким образом локально усиливая цитокининовый ответ (Leibfried *et al.*, 2005).

В то же время ТФ *WUS* взаимодействует с системой *CLAVATA*, включающей в себя рецепторы *CLV1* и *CLV2/CRN*, с которыми связывается пептидный лиганд *CLV3* – член семейства *CLE*-пептидов, которые в настоящее время рассматриваются как новый класс пептидных гормонов растений. Связывание *CLV3* запускает сигнальный каскад, приводящий к подавлению экспрессии гена *WUS* в ОЦ и, как следствие, – к ограничению размера пула стволовых клеток в ПАМ. Взаимодействие *WUS*-

CLAVATA обеспечивает регуляцию тонкого баланса пролиферации и дифференцировки клеток в меристеме (Schoof *et al.*, 2000).

Ген *CLV1* кодирует трансмембранную рецепторную киназу и экспрессируется в клетках внутреннего слоя ЦЗ ПАМ (Clark *et al.*, 1996). Ген *CLV2* кодирует белок, имеющий значительное сходство с *CLV1*, но без цитоплазматического киназного домена; для связывания лиганда *CLV2* образует гетеродимер с *CLV1*-подобной киназой *CORYNE* (*CRN*), лишенной экстраклеточного рецепторного домена (Muller *et al.*, 2008). Ген *CLV3* экспрессируется во внешних слоях клеток ЦЗ ПАМ (рис. 7, а).

Продуктом гена *CLV3* является небольшой секреторный пептид из 96 аминокислот. Связывание белка *CLV3* с рецепторами *CLV1* и *CLV2/CRN* приводит к запуску малоизученного сигнального каскада, негативно регулирующего экспрессию гена *WUS*. ТФ *WUS* позитивно регулирует экспрессию гена *CLV3*, напрямую связываясь с его промотором (Muller *et al.*, 2008).

Семейство пептидов *CLE* (*CLV3/ESR*) получило свое название по первым выявленным представителям: вышеупомянутому секреторному пептиду *CLV3* арабидопсиса и белкам с неизвестной функцией *ENDOSPERM SURROUNDING REGION* (*ESR*) кукурузы. *CLE*-пептиды широко распространены у всех наземных растений: так, в геноме арабидопсиса выявлено 32 гена, кодирующих пептиды этого класса (Ito *et al.*, 2006). Семейство *CLE*-пептидов арабидопсиса делится на две группы в соответствии с их влиянием на дифференцировку стволовых клеток в меристемах (Whitford *et al.*, 2008). К группе А у арабидопсиса относятся *CLV3*, *CLE40* и другие *CLE*-пептиды, подавляющие пролиферацию и стимулирующие дифференцировку стволовых клеток в ПАМ и КАМ. В противоположность им *CLE*-пептиды группы В, такие как *CLE41*, *42* и *44*, действующие в камбии, способствуют пролиферации и поддержанию недифференцированного статуса стволовых клеток.

Таким образом, в системе *WUS-CLAVATA* работает отрицательная обратная связь: экспрессия *WUS* в ОЦ стимулирует поддержание стволовых клеток в верхних слоях меристемы и активирует в них экспрессию *CLV3*; в свою очередь секреторный пептид *CLV3* перемещается в нижележащие слои меристемы, где связывается с *CLV1*-подобными рецепторами и запускает каскад, подавляющий экспрессию *WUS* (рис. 8, б).

Таким образом, в системе *WUS-CLAVATA* работает отрицательная обратная связь: экспрессия *WUS* в ОЦ стимулирует поддержание стволовых клеток в верхних слоях меристемы и активирует в них экспрессию *CLV3*; в свою очередь секреторный пептид *CLV3* перемещается в нижележащие слои меристемы, где связывается с *CLV1*-подобными рецепторами и запускает каскад, подавляющий экспрессию *WUS* (рис. 8, б).

ИЗУЧЕНИЕ НЕРЕГУЛЯРНЫХ МЕРИСТЕМ: ПОИСК УНИВЕРСАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ

Одним из интересных открытий последнего десятилетия является обнаружение систем, сходных с системой *CLAVATA*, в других типах меристем: КАМ, камбии, меристемах клубеньков у бобовых, а также в аномальных меристемоподобных структурах, развивающихся при взаимодействии с патогенами (Додуева и др., 2012).

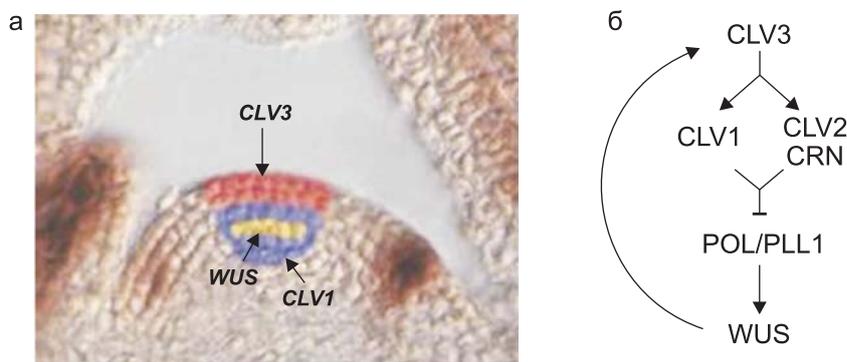


Рис. 7. Работа системы *WUS-CLAVATA* в апикальной меристеме побега (по: (Bowman, Eshed, 2000. P. 110–115)).

а – экспрессия генов *CLV1*, *CLV3* и *WUS* в апикальной меристеме побега; б – схема сигнального каскада, индуцируемого *CLV3*.

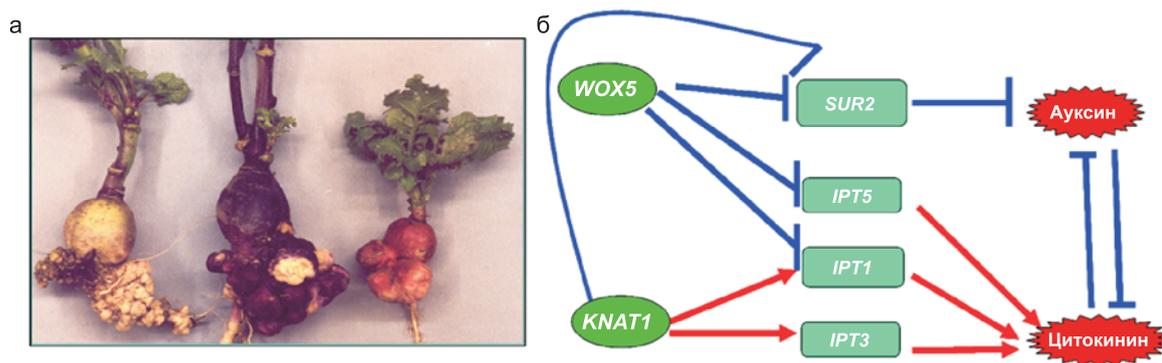


Рис. 9. Опухоли у инбредных линий редиса (а) и предполагаемая схема регуляции опухолеобразования с участием меристем-специфичных генов (б).

корне (Matveeva *et al.*, 2004). На примере опухолей у линий редиса была показана роль генов семейств *KNOX* и *WOX* в развитии опухолей, а также их связь с экспрессией генов биосинтеза цитокининов (Tvorogova *et al.*, 2012). На редисе впервые получены данные о взаимодействии CLE-пептидов и цитокининов, которое может иметь значение для индукции опухоли (Додуева и др., 2013).

Наличие общих механизмов развития для разных меристем, в том числе таких аномальных меристемоподобных структур, как опухоли, предполагает универсальность механизмов регуляции меристематической активности клеток растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У высших растений дифференциальная экспрессия генов, основанная на работе разнообразных ТФ, лежит в основе разнообразия типов клеток и тканей. Экспрессия генов, кодирующих ТФ, определяет идентичность клеток, тканей, органов растений. Большой процент мутантных форм растений, характеризующихся теми или иными аномалиями развития, имеют нарушения в генах ТФ. Яркой иллюстрацией этого универсального принципа может служить роль ТФ в определении идентичности органов цветка.

Важное значение в развитии растений имеет принцип клеточных взаимодействий (принцип эмбриональной индукции), который заключается в том, что одна ткань или группа клеток

(индуктор) влияет на другую (компетентную ткань), определяя путь ее развития. Этот универсальный принцип развития постулирует важность позиционной информации (клеточного окружения) и межклеточных взаимодействий в определении пути дифференцировки клеток. По сути, развитие – это цепь эмбриональных индукций, т. е. взаимодействий индуктор – компетентная ткань. Рассогласование (например, из-за мутаций) во времени созревания индуктора и компетентной ткани нарушает ход морфогенетического процесса. У растений примером такого типа индукции является ограничение областей экспрессии генов *WUS* в ПАМ и *WOX5* в КАМ за счет работы системы *CLAVATA*.

Согласованное «включение» и «выключение» генов одной группы при дифференцировке клеток являются общепринятым способом регуляции развития и зависят от активации/инактивации экспрессии генов группами ТФ, активными на разных стадиях. Вместе с тем, принцип единства активации/инактивации генов у растений имеет ряд особенностей. У животных в его основе лежит кластеризация генов: зачастую гены одной группы расположены на одной хромосоме и образуют кластер, что облегчает регуляцию их экспрессии (яркий пример – кластеры *HOX* генов). У растений не обнаружено примеров кластеризации генов; в частности, гены семейства *KNOX* не организованы в кластеры, их согласованная активация/инактивация достигается за счет регуляции экспрессии генов одной группы одними и теми же ТФ.

Развитие растений согласовано с действием факторов внешней среды гораздо в большей

степени, чем развитие животных, что связано с особенностями прикрепленного образа жизни. Важнейшими внутренними факторами, контролирующими развитие растений, являются разнообразные группы фитогормонов. В основе гормональной регуляции развития всех высших эукариот лежит гормон-зависимый контроль экспрессии генов, кодирующих ТФ.

Различаясь особенностями регуляторных механизмов, животные и растения вместе с тем имеют консервативные семейства генов, которые, возникнув на заре эволюции многоклеточных, сохраняют консерватизм в силу эффективности механизмов развития, которые ими определяются. Растения и животные имеют целый ряд схожих по структуре ТФ, играющих ключевую роль в развитии (MADS, ТФ с гомеодоменом и др.). Например ТФ растений KNOX имеют структурное сходство с ТФ животных MEIS, те и другие относятся к надсемейству гомеодомен-содержащих ТФ TALE, а также характеризуются сходством функций: и те, и другие вовлечены в регуляцию пролиферации клеток. В то же время растения и животные имеют различия во многих существенных деталях: например, у растений к гомеозисным замещениям органов приводят мутации не по гомеобокс-содержащим генам, а по генам *MADS* и т. д. Эти отличия, появившиеся на более поздних этапах эволюции, лежат в основе принципиальных различий растений и животных.

Говоря об эволюции растений, необходимо отметить роль горизонтального переноса генов (ГПГ) в этом процессе. Постгеномная эра исследований показала, что разнообразие генов эукариот достаточно ограничено, по крайней мере, по сравнению с прокариотами: многие процессы даже у отдаленных видов растений контролируются очень сходными генетическими факторами. ГПГ может оказаться дополнительным и очень важным аспектом эволюции, позволяющим конструировать геном эукариот с участием прокариотических факторов. Это дало бы возможность достичь исключительной оперативности в приобретении растениями необходимых адаптаций. ГПГ происходит экстенсивно в пределах прокариот, и его экологические и эволюционные эффекты хорошо документированы. В последнее время стали появляться факты, указывающие на то,

что в эволюции эукариот ГПГ также имеет место. Хотя принципиально такая возможность была ранее продемонстрирована американским микробиологом Ю. Нестером при обнаружении последовательностей *Agrobacterium rhizogenes* в геномах видов рода *Nicotiana* (White *et al.*, 1982), изучения распространенности ГПГ от агробактерий к растениям в природе до исследований на кафедре генетики и биотехнологии СПбГУ не проводилось. В работе Т.В. Матвеевой в ходе анализа 208 видов двудольных растений был выявлен новый пример ГПГ от агробактерий к растениям: у видов рода *Linaria* обнаружены Т-ДНК-подобные последовательности, гомологичные генам *A. rhizogenes* *ORF2*, *ORF3*, *ORF8*, *rolA*, *rolB*, *rolC*, *ORF13*, *ORF14* и *mis* (Matveeva *et al.*, 2012). Следовательно, ГПГ от агробактерий к растениям, являясь редким событием, все же не уникален для представителей рода *Nicotiana*, как считалось ранее.

Итак, изучение развития растений позволило проследить универсальные для эукариот принципы регуляции развития, а также выявить уникальные особенности онтогенеза этих весьма своеобразных живых существ. В эволюции растений важное место занимали мутации по регуляторным генам, изменение экспрессии которых привело к многообразию форм.

С точки зрения биологии развития, растения относятся к числу организмов с ярко выраженным «регуляторным» типом онтогенеза. По сравнению с другими многоклеточными они характеризуются наиболее высоким адаптивным потенциалом, возможно, именно поэтому растения доминируют в биосфере.

ЛИТЕРАТУРА

- Додуева И.Е., Юрлова Е.В., Осипова М.А., Лутова Л.А. CLE-пептиды – универсальные регуляторы развития меристем // Физиол. растений. 2012. Т. 59. С. 1–15.
- Додуева И.Е., Кирюшкин А.С., Юрлова Е.В. и др. Влияние цитокининов на экспрессию генов CLE редиса // Физиол. растений. 2013. Т. 60. С. 399–407.
- Ежова Т.А., Лебедева О.В., Огаркова О.А. *Arabidopsis thaliana* – модельный объект генетики растений. М.: МАКС Пресс, 2003.
- Лутова Л.А., Ежова Т.А., Додуева И.Е., Осипова М.А. Генетика развития растений. СПб.: Изд-во Н-Л, 2010.
- Лутова Л.А., Додуева И.Е. Роль меристемоспецифических генов растений в формировании генетических опухо-

- лей // Онтогенез. 2007. Т. 38. № 6. С. 350–362.
- Лутова Л.А., Долгих Е.А., Додуева И.Е. и др. Изучение системного контроля деления и дифференцировки клеток растений на примере опухолевого роста у редиса // Генетика. 2008. Т. 44. С. 1075–1083.
- Нарбут С.И. Генетическая опухоль, полученная при инбридинге у редиса // Вестн. Ленингр. ун-та. 1967. Т. 15. С. 144–149.
- Осипова М.А., Долгих Е.А., Лутова Л.А. Особенности экспрессии меристем-специфичного гена *WOX5* при органогенезе клубеньков бобовых растений // Онтогенез. 2011. Т. 42. С. 1–13.
- The Arabidopsis Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana* // Nature. 2000. V. 408. P. 796–815.
- Bowman J.L., Eshed Y. Formation and maintenance of the shoot apical meristem // Trends Plant Sci. 2000. V. 5. P. 110–115.
- Burglin T.R. The PBC domain contains a MEINOX domain: coevolution of *Hox* and *TALE* homeobox genes // Develop. Genes Evol. 1998. V. 208. P. 113–116.
- Clark S.E., Jacobsen S.E., Levin J.Z., Meyerowitz E.M. The *CLAVATA* and *SHOOT MERISTEMLESS* loci competitively regulate meristem activity in *Arabidopsis* // Development. 1996. V. 122. P. 1567–1575.
- Dodsworth S. A diverse and intricate signalling network regulates stem cell fate in the shoot apical meristem // Develop. Biol. 2009. V. 336. P. 1–9.
- Hamant O., Pautot V. Plant development: a *TALE* story // Comptes Rendus Biol. 2010. V. 333. P. 371–381.
- Hay A., Tsiantis M. A *KNOX* family *TALE* // Curr. Opin. Plant Biol. 2009. V. 12. No. 5. P. 593–598.
- Heckmann A.B., Lombardo F., Miwa H. *et al.* Lotus japonicus nodulation requires two GRAS domain regulators, one of which is functionally conserved in a non-legume // Plant Physiol. 2006. V. 142. P. 1739–1750.
- Hirsch S., Oldroyd G.E. GRAS-domain transcription factors that regulate plant development // Plant Signaling Behav. 2009. V. 4. P. 698–700.
- Ito Y., Nakanomyo I., Motose H. *et al.* Dodeca-CLE peptides as suppressors of plant stem cell differentiation // Science. 2006. V. 313. P. 842–845.
- Janssen B.J., Williams A., Chen J.J. *et al.* Isolation and characterization of two knotted-like homeobox genes from tomato // Plant Mol. Biol. 1998. V. 36. P. 417–425.
- Jasinski S., Piazza P., Craft J. *et al.* *KNOX* action in *Arabidopsis* is mediated by coordinate regulation of cytokinin and gibberellin activities // Curr. Biol. 2005. V. 6. P. 1560–1565.
- Kerstetter R., Vollbrecht E., Lowe B. *et al.* Sequence analysis and expression patterns divide the maize knotted1-like homeobox genes into two classes // Plant Cell. 1994. V. 6. P. 1877–1887.
- Krizek B.A., Fletcher J.C. Molecular mechanisms of flower development: an armchair guide // Nature Rev. Genetics. 2005. V. 6. P. 688–698.
- Leibfried A., To J.P., Busch W. *et al.* *WUSCHEL* controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators // Nature. 2005. V. 438. P. 1172–1175.
- Matveeva T.V., Frolova N.V., Smets R. *et al.* Hormonal control of tumor formation in radish // J. Plant Growth Regulation. 2004. V. 23. P. 37–43.
- Matveeva T.V., Bogomaz D.I., Pavlova O.A. *et al.* Horizontal gene transfer from genus agrobacterium to the plant linaria in nature // Mol. Plant-Microbe Interaction. 2012. V. 25. P. 1542–1551.
- Mortier V., Den Herder G., Whitford R. *et al.* CLE peptides control *Medicago truncatula* nodulation locally and systemically // Plant Physiol. 2010. V. 153. P. 222–237.
- Muller R., Bleckmann A., Simon R. The receptor kinase *CORYNE* of *Arabidopsis* transmits the stem cell-limiting signal *CLAVATA3* independently of *CLAVATA1* // Plant Cell. 2008. V. 20. P. 1–13.
- Osipova M.A., Mortier V., Demchenko K.N. *et al.* *WUSCHEL-RELATED HOMEBOX5* gene expression and interaction of CLE peptides with components of the systemic control add two pieces to the puzzle of auto-regulation of nodulation // Plant Physiol. 2012. V. 158. P. 1329–1341.
- Postlethwait J.H., Schneiderman H.A. Pattern formation and determination in the antenna of the homoeotic mutant *Antennapedia* of *Drosophila melanogaster* // Develop. Biol. 1971. V. 25. P. 606–640.
- Reiser L., Sanchez-Baracaldo P., Hake S. Knots in the family tree: evolutionary relationships and functions of *knox* homeobox genes // Plant Mol. Biol. 2000. V. 42. P. 151–166.
- Replogle A., Wang J., Bleckmann A. *et al.* Nematode CLE signaling in *Arabidopsis* requires *CLAVATA2* and *CORYNE* // Plant J. 2011. V. 65. P. 430–440.
- Sablowski R. Plant and animal stem cells: conceptually similar, molecularly distinct? // Trends Cell Biol. 2004. V. 14. P. 605–611.
- Sakamoto T., Kamiya N., Ueguchi-Tanaka M. *et al.* *KNOX* homeodomain protein directly suppresses the expression of a gibberellin biosynthetic gene in the tobacco shoot apical meristem // Genes Develop. 2001. V. 1. P. 581–590.
- Sarkar A.K., Luijten M., Miyashima S. *et al.* Conserved factors regulate signalling in *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers // Nature. 2007. V. 446. P. 811–814.
- Schwarz-Sommer Z., Huijser P., Nacken W. *et al.* Genetic control of flower development by homeotic genes in *Antirrhinum majus* // Science. 1990. V. 250. P. 931–936.
- Schoof H., Lenhard M., Haecker A. *et al.* The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes // Cell. 2000. V. 100. P. 635–644.
- Searle I.R., Men A.E., Laniya T.S. *et al.* Long-distance signaling in nodulation directed by a *CLAVATA1*-like receptor kinase // Science. 2003. V. 299. P. 109–112.
- Shiu S.-H., Shih M.-C., Li W.-H. Transcription factor families have much higher expansion rates in plants than in animals // Plant Physiol. 2005. V. 139. P. 18–26.
- Smaczniak C., Immink R.G., Angenent G.C., Kaufmann K. Developmental and evolutionary diversity of plant *MADS*-domain factors: insights from recent studies // Development. 2012. V. 139. P. 3081–3098.
- Stahl Y., Simon R. Plant primary meristems: shared functions and regulatory mechanisms // Curr. Opin. Plant Biol. 2010. V. 13. P. 53–58.
- Theissen G., Melzer R. Molecular mechanisms underlying origin and diversification of the angiosperm flower // Ann. Bot. 2007. V. 100. P. 603–619.
- Tvorogova V.E., Osipova M.A., Lutova L.A. Interactions

- between KNOX and WOX genes and phytohormones in radish inbred lines with spontaneous tumorigenesis // 18th FESPB Congress, Freiburg, Germany, July 29–August 3, 2012. P. 622.
- van der Graaff E., Laux T., Rensing S.A. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family // *Genome Biol.* 2009. V. 10. P. 248–255.
- White F.F., Ghidossi G., Gordon M.P., Nester E.W. Tumor induction by *Agrobacterium rhizogenes* involves the transfer of plasmid DNA to the plant genome // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1982. V. 79. P. 3193–3197.
- Whitford R., Fernandez A., De Groot R. *et al.* Plant CLE peptides from two distinct functional classes synergistically induce division of vascular cells // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105. P. 18625–18630.
- РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА**
- Лутова Л.А., Ежова Т.А., Додуева И.Е., Осипова М.А. Генетика развития растений. СПб.: Изд-во Н-Л, 2010.
- Додуева И.Е., Юрлова Е.В., Осипова М.А., Лутова Л.А. CLE-пептиды – универсальные регуляторы развития меристем // *Физиология растений.* 2012. Т. 59. С. 1–15.
- Doonan J.H., Sablowski R. Walls around tumours – why plants do not develop cancer // *Nat. Rev. Cancer.* 2010. V. 10. P. 794–802.
- Sablowski R. Plant and animal stem cells: conceptually similar, molecularly distinct? // *Trends Cell Biol.* 2004. V. 14. P. 605–611.