

Генетика развития растений

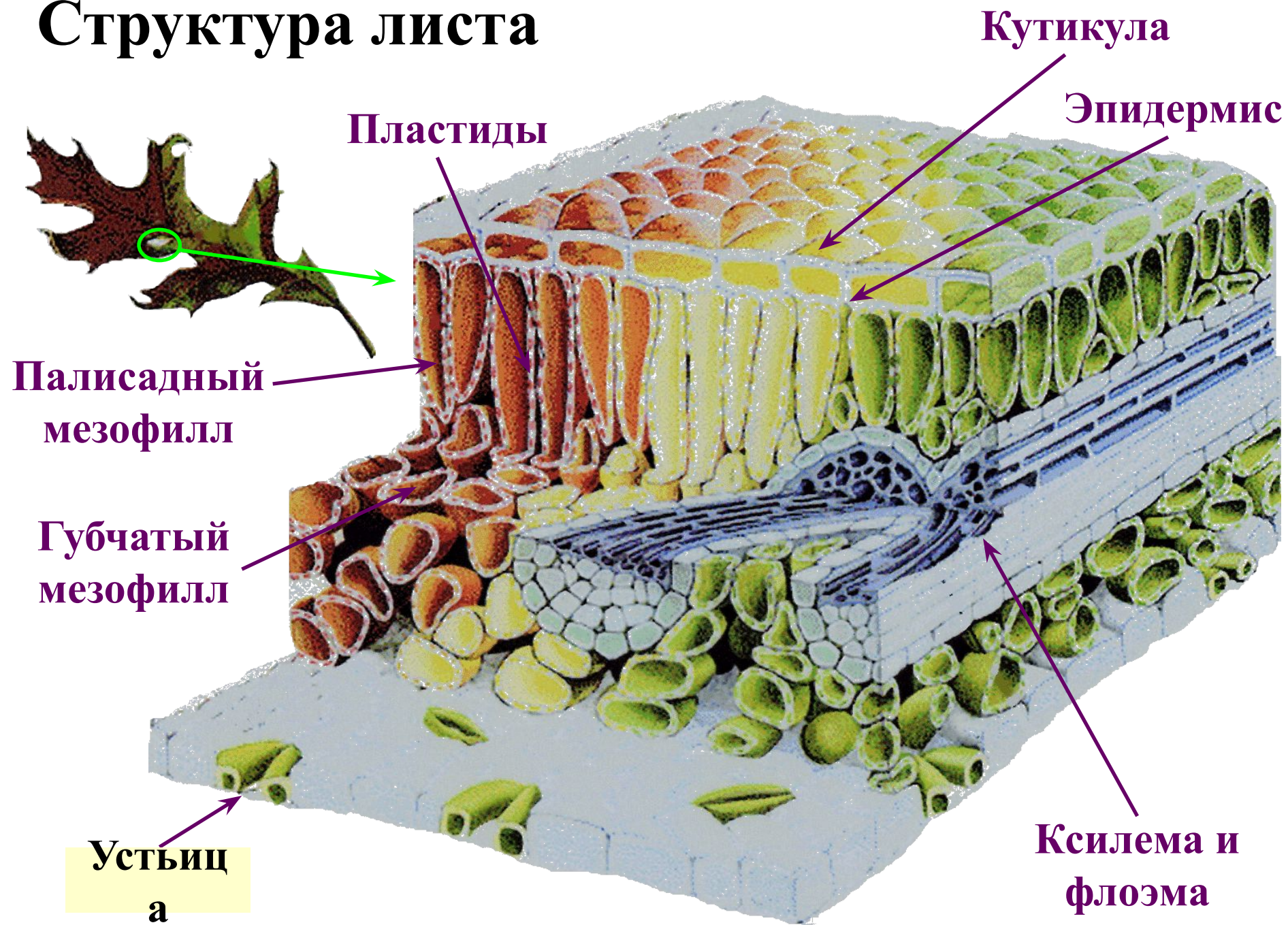
Развитие =
рост + дифференцировка

Развитие клетки,
ткани, органа
(морфогенез)



Развитие
листа

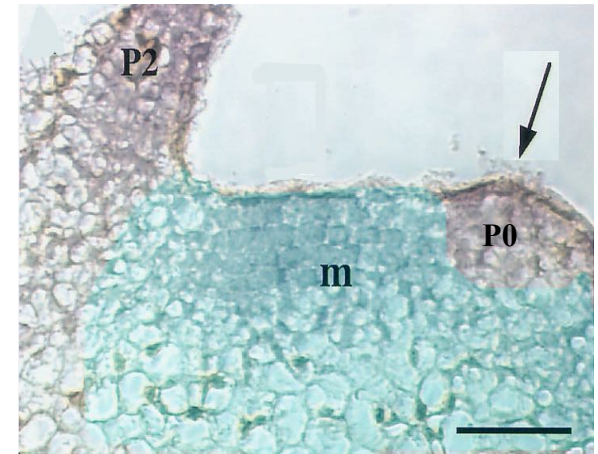
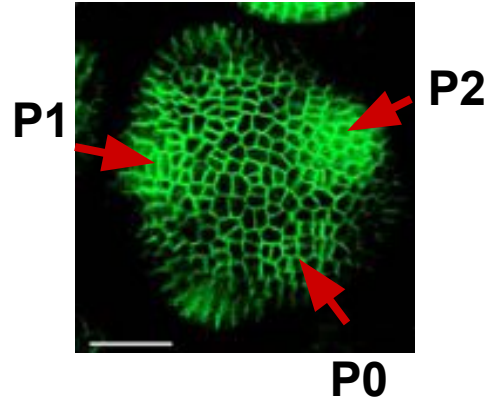
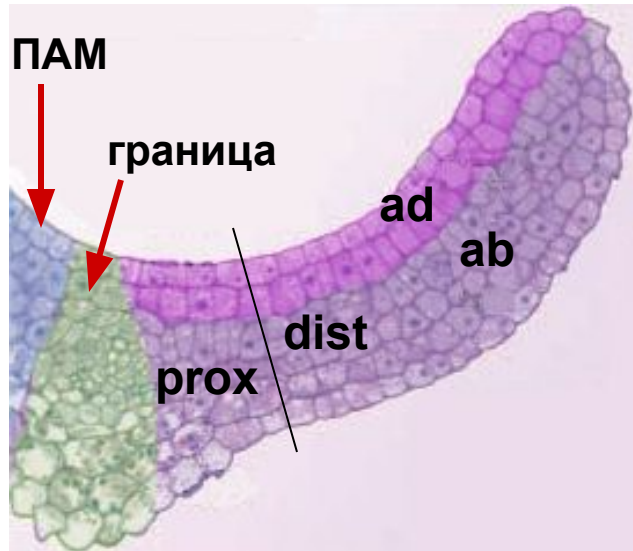
Структура листа



Основные события в развитии листа:

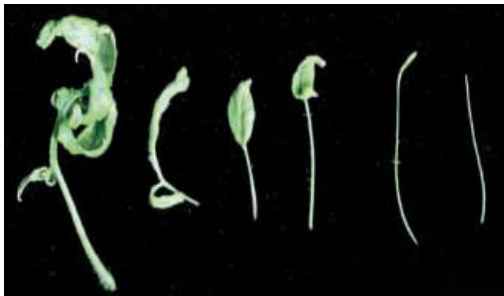
1. Закладка листового примordia

2. Определение симметрии листа



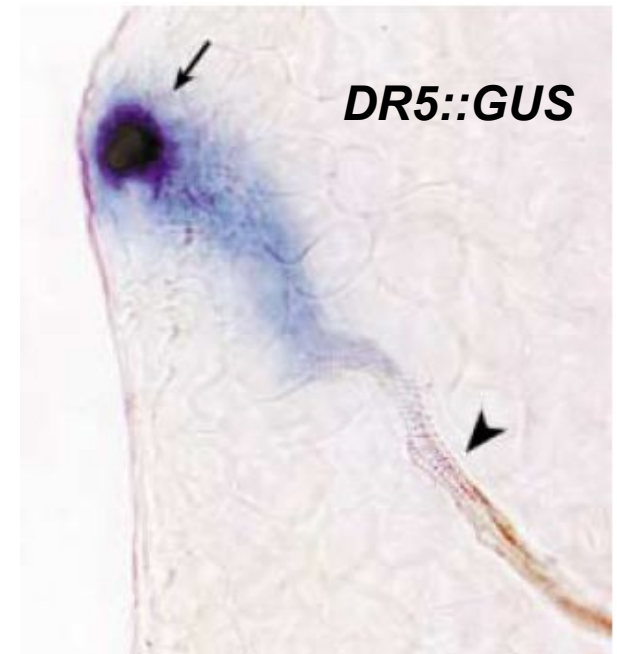
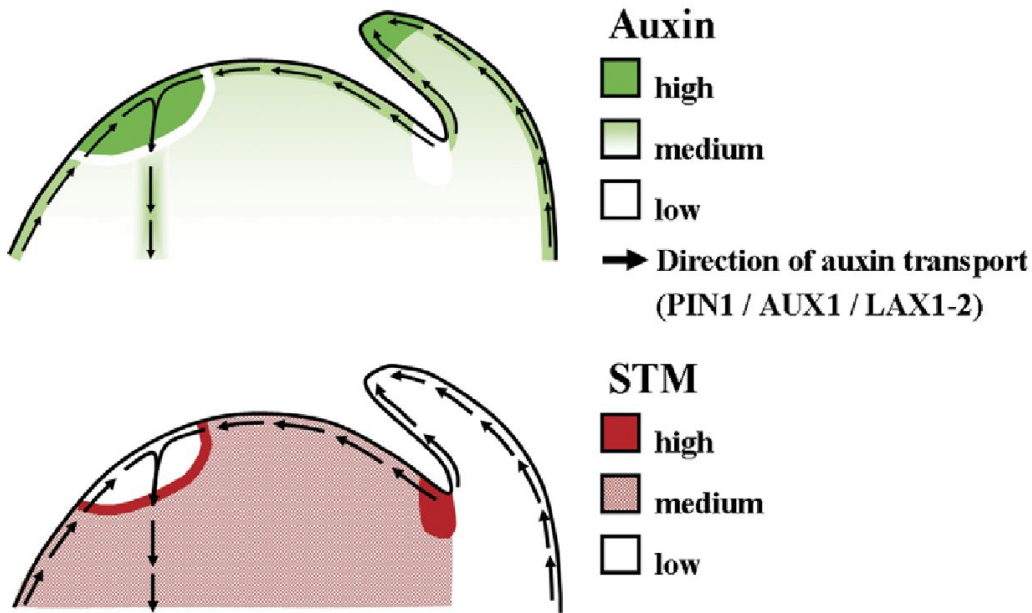
 -STM, цитокинины  -AS, ANT, ауксины

3. Определение формы листа
(цельный, рассеченный, сложный)

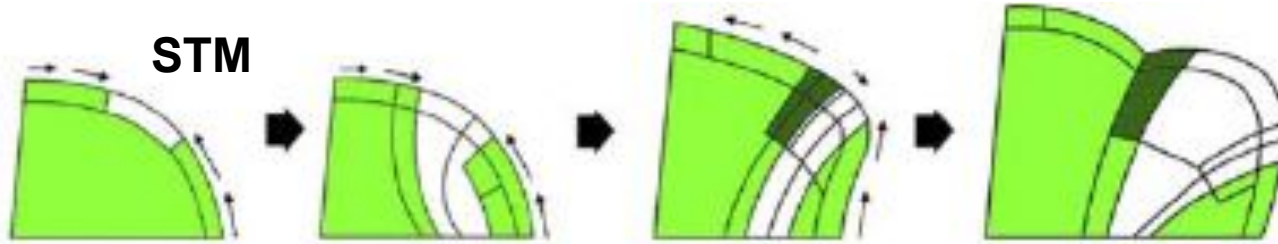


Инициация листового примордия:

1. Появление локального максимума концентрации ауксинов
2. Репрессия транскрипции генов *KNOX*:
3. Начало экспрессии генов *ANT* / *AIL*



Роль генов **KNOX** в регуляции развития листьев

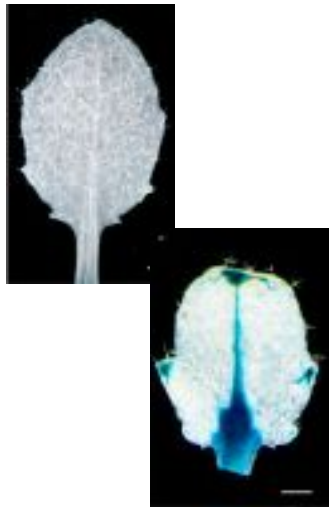


- В норме гены **KNOX** класса I никогда не экспрессируются в листовых зачатках

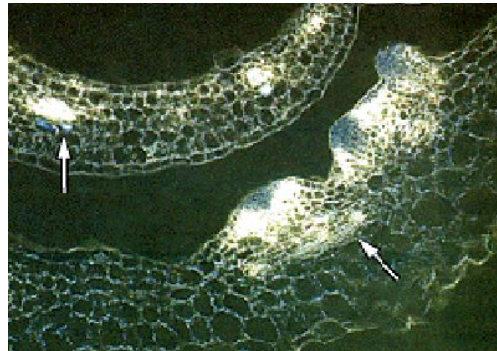


- **KNAT1** и **KNAT2** предположительно играют основную роль в развитии листа

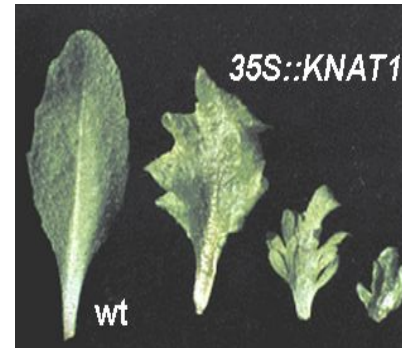
- Возможно возобновление экспрессии **KNOX** генов на более поздних стадиях развития листа:



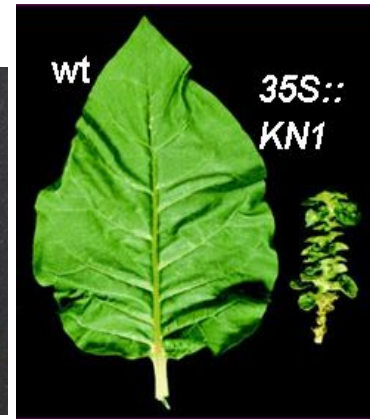
экспрессия **KNOX**



пролиферация клеток

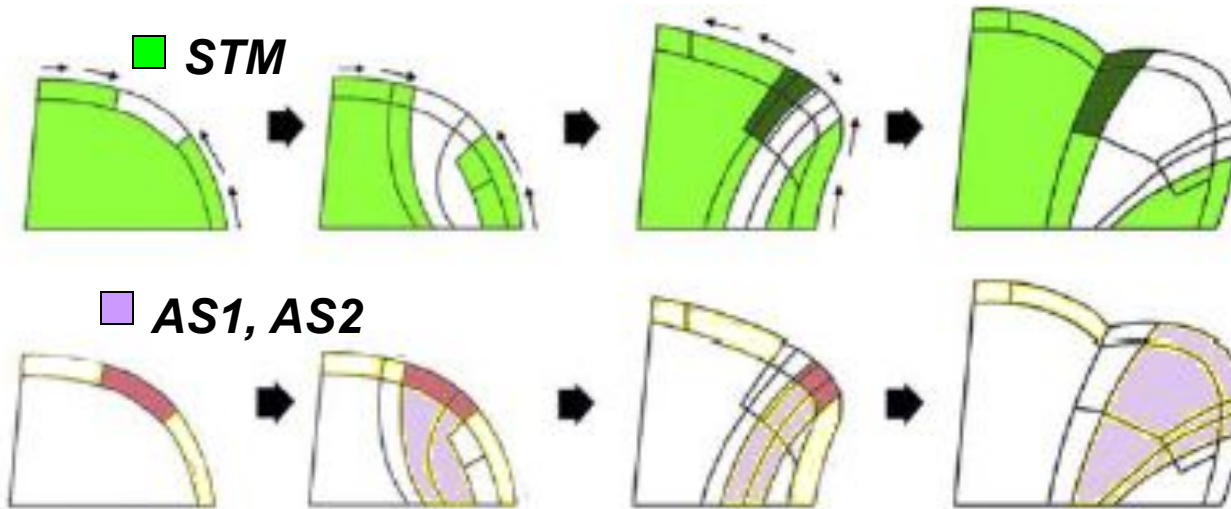


формирование сложных листьев

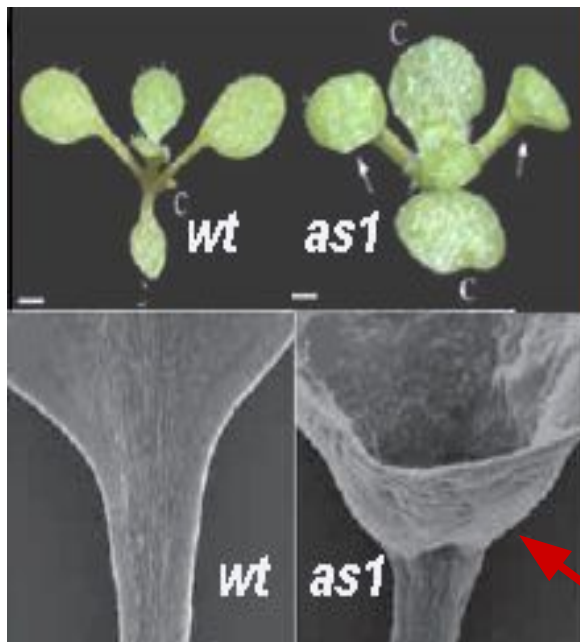


Гены **ASYMMETRIC LEAF (AS1 и AS2)**

– репрессоры **KNOX** генов в листовых примордиях



- Продукты генов **AS** – Транскрипционные факторы семейства **MYB (AS1)** семейства **LOB (AS2)**

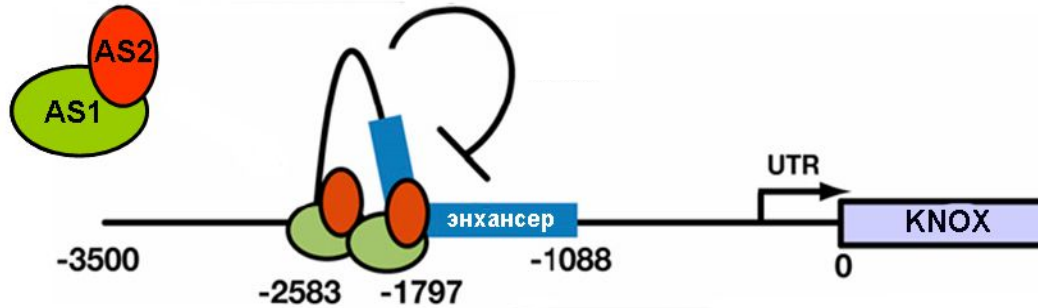


- Фенотипы мутантов: пролиферация клеток листового зачатка, нарушение симметрии листа

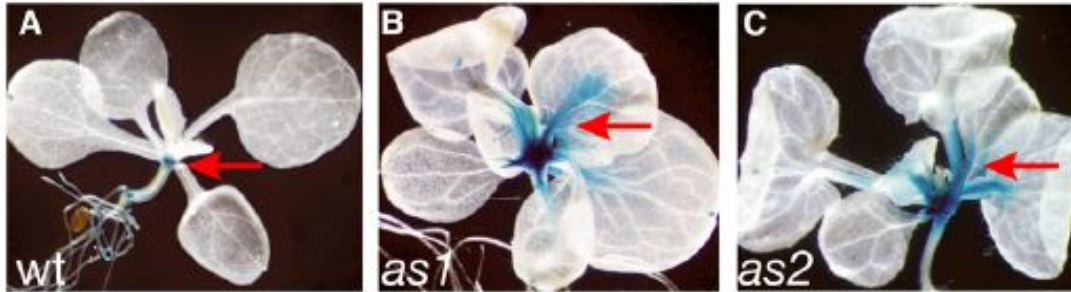


- Ортологи гена **AS1 Arabidopsis**: **RS2 (Zea mais)**, **PHAN (Anthirrinum majus)**

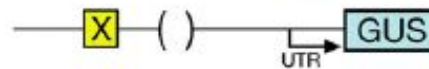
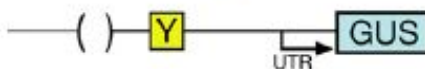
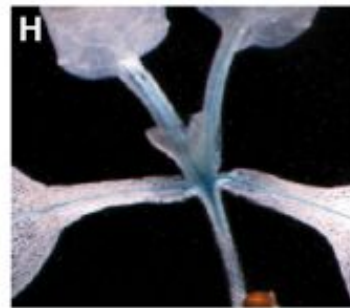
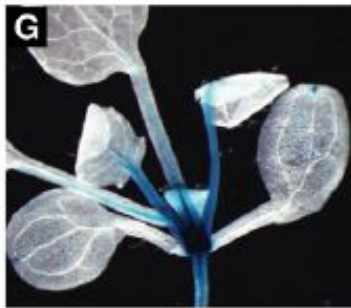
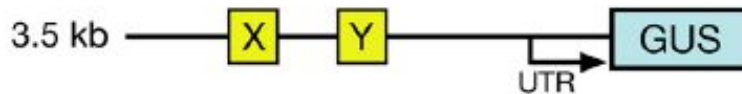
Механизмы репрессии *KNOX* генов с помощью ТФ AS



- AS1 и AS2 образуют гетеродимеры, которые взаимодействуют сайтами X и Y в энхансере, регулирующем работу *KNOX* генов

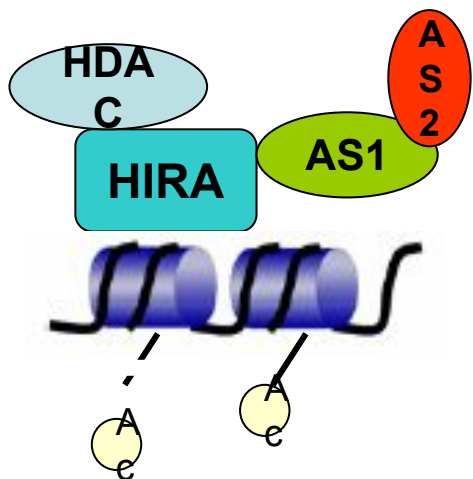


- Делеция сайтов X или Y приводит к экспрессии *KNOX* генов в листьях

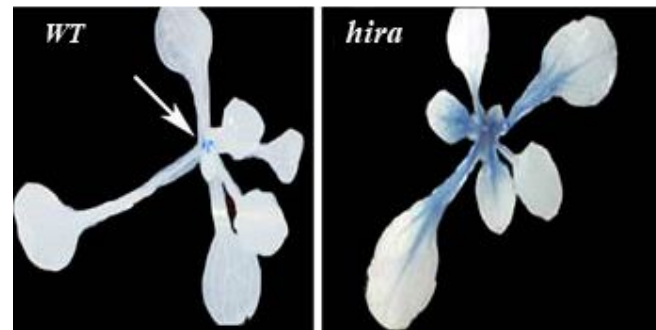


Эпигенетические механизмы репрессии *KNOX* генов

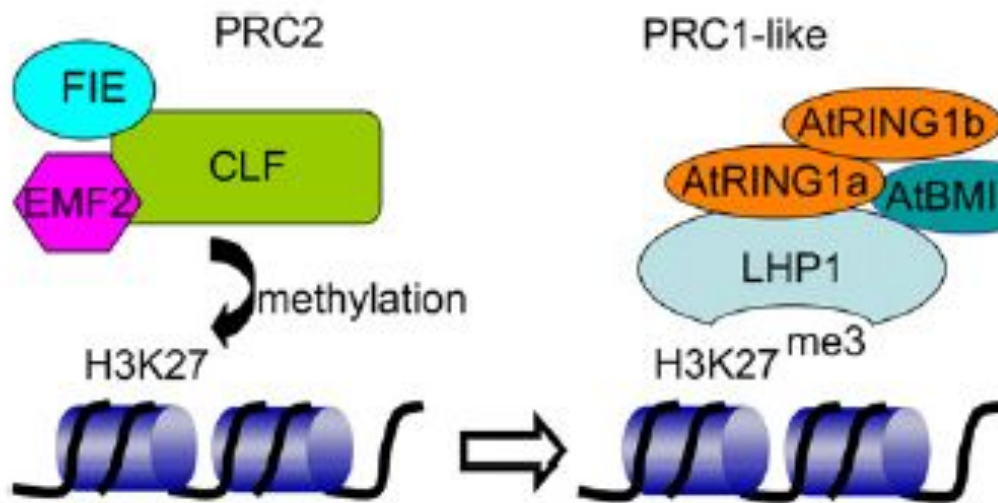
1. Кратковременная репрессия (только инициация примордия)



Деацетилирование гистонов:
Гистоновый шаперон HIRA, взаимодействующий с гистон-деацетилазами (HDAC) и димерами ТФ AS1-AS2



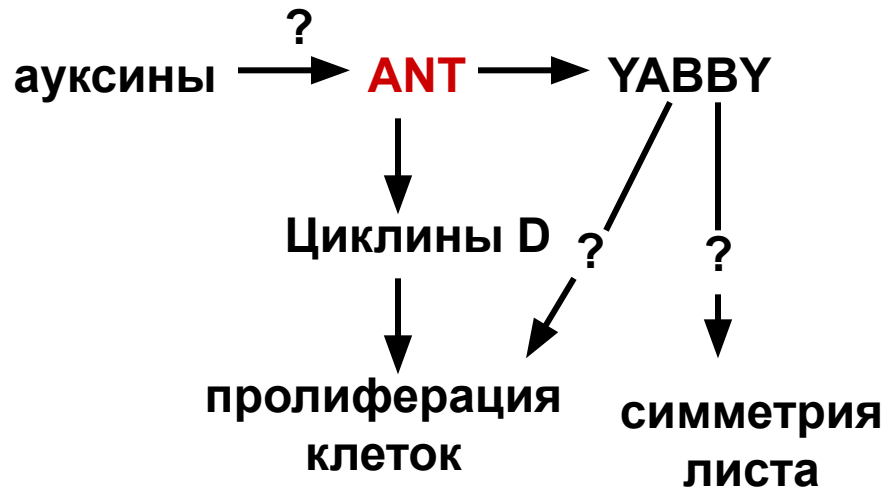
2. Долговременная репрессия (инициация и развитие)



1. Метилирование гистонов:
Белок CURLY LEAF (CLF) в составе Polycomb комплекса

2. Убиквитинирование гистонов:
Белок LHP, Убиквитин-лигазы RING1a и 1b

Пролиферация клеток листового примордия: ген *AINTEGUMENTA (ANT)*



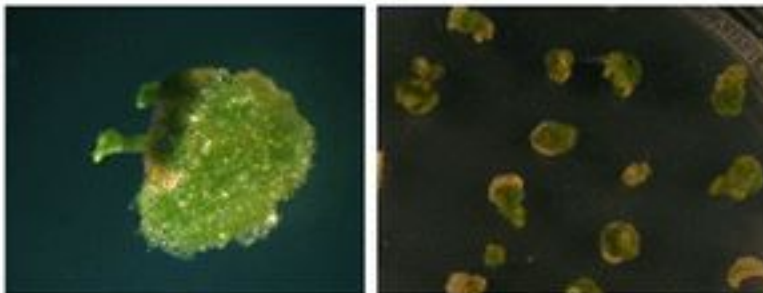
Продукт гена *ANT* – ТФ семейства *APETALA2*



ant *WT* *35S::ANT*

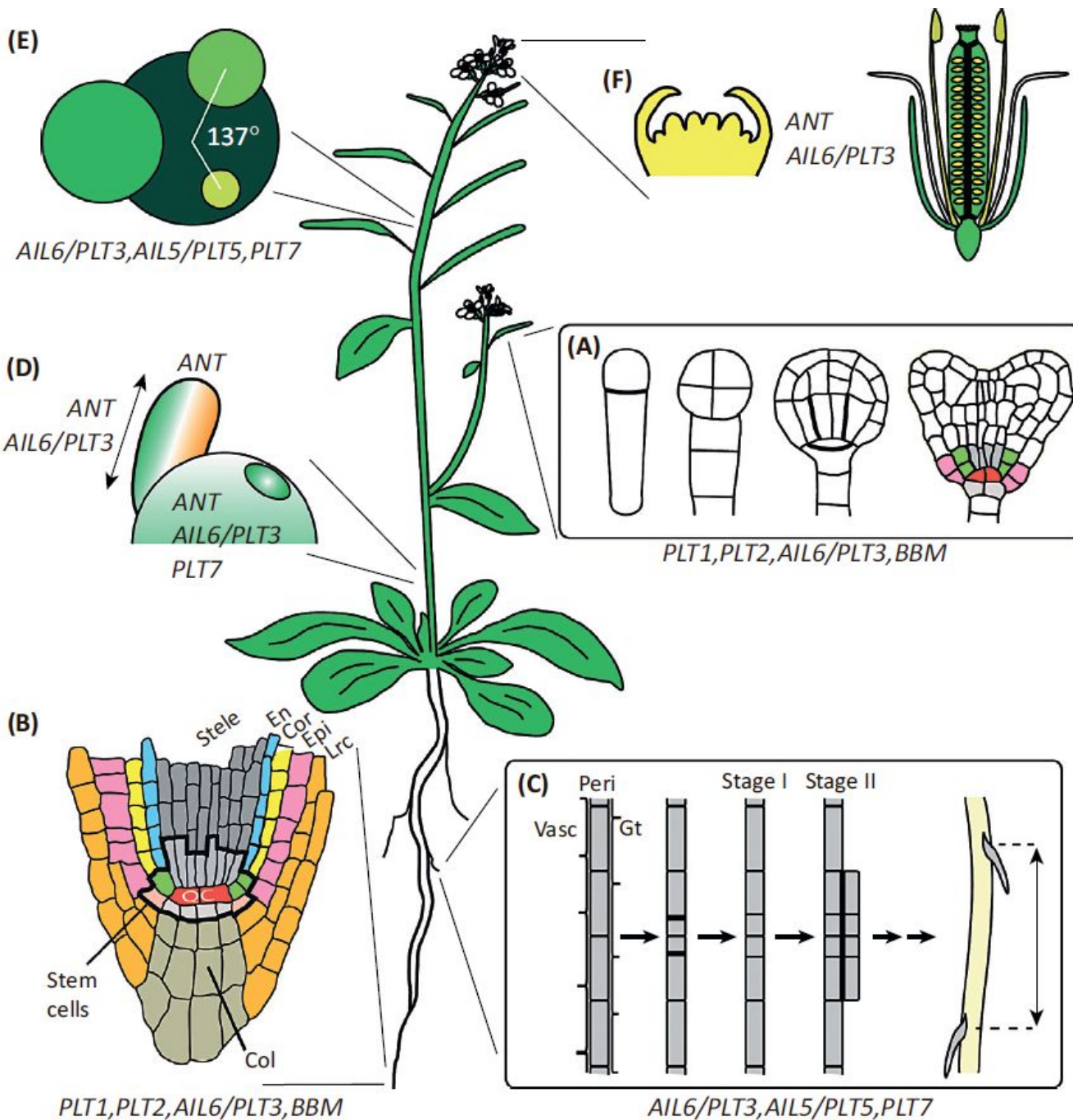


WT



35S::ANT

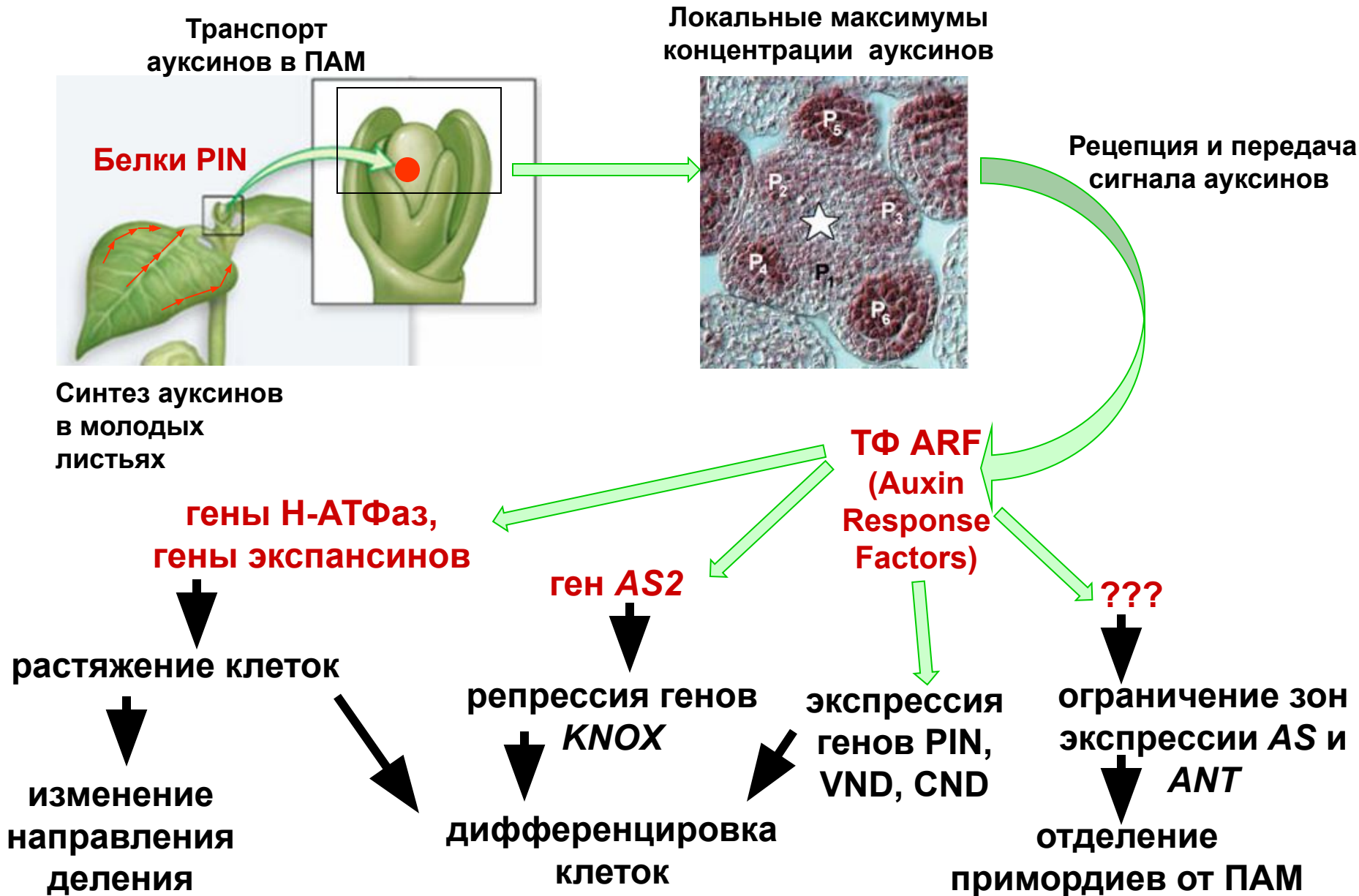




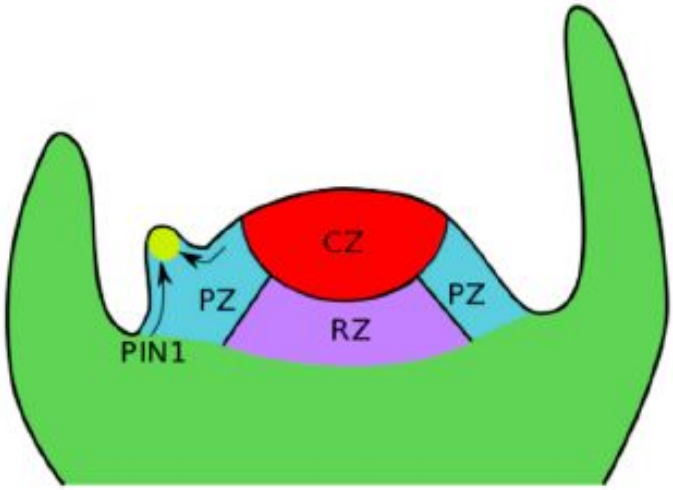
Роль ТФ группы ANT-Like (AIL) в развитии растений:

- ANT □ инициация и рост листа
- PLT □ закладка и развитие корня
- BBM □ эмбриогенез

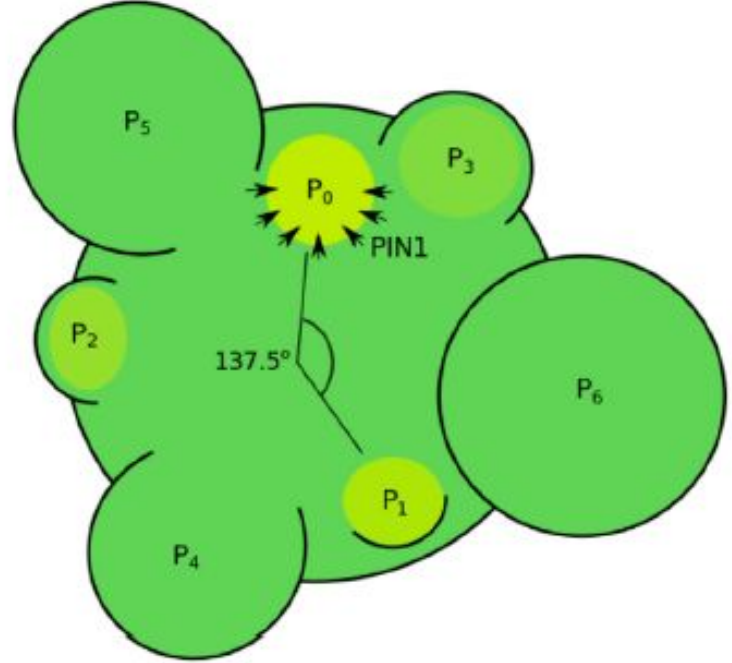
Ауксины – ключевые регуляторы инициации листа



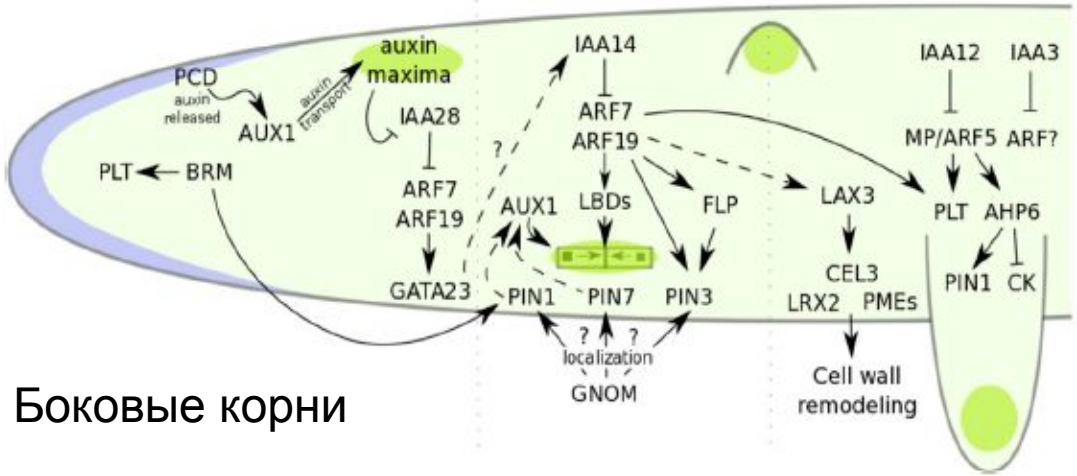
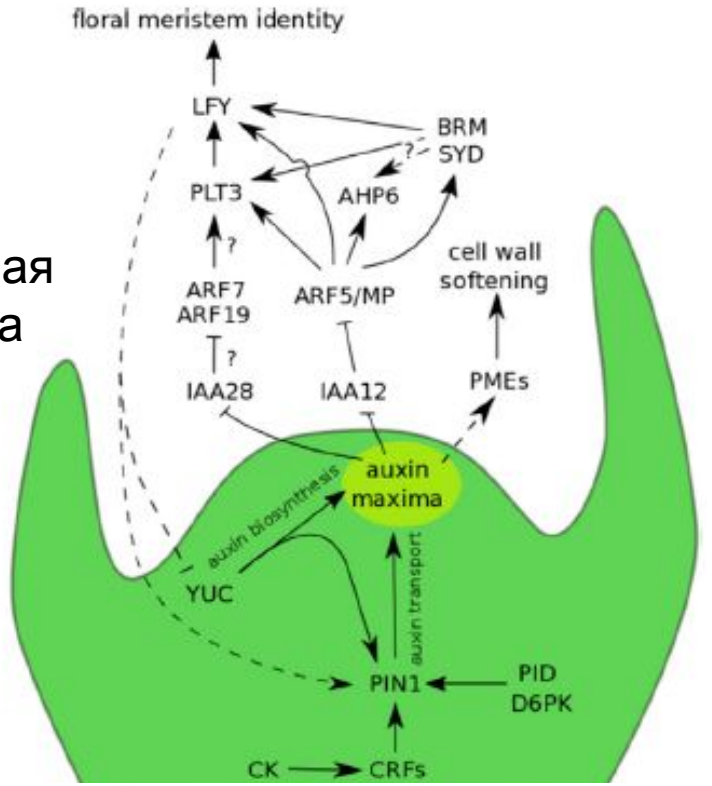
Роль локальных максимумов ауксина в органогенезе растений



Вегетативная ПАМ



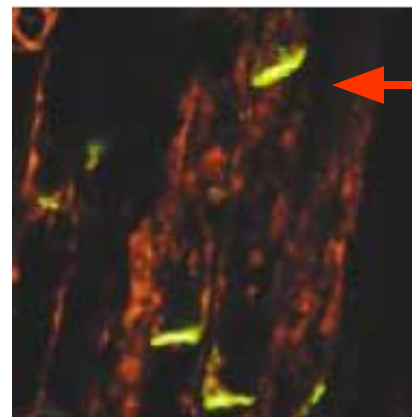
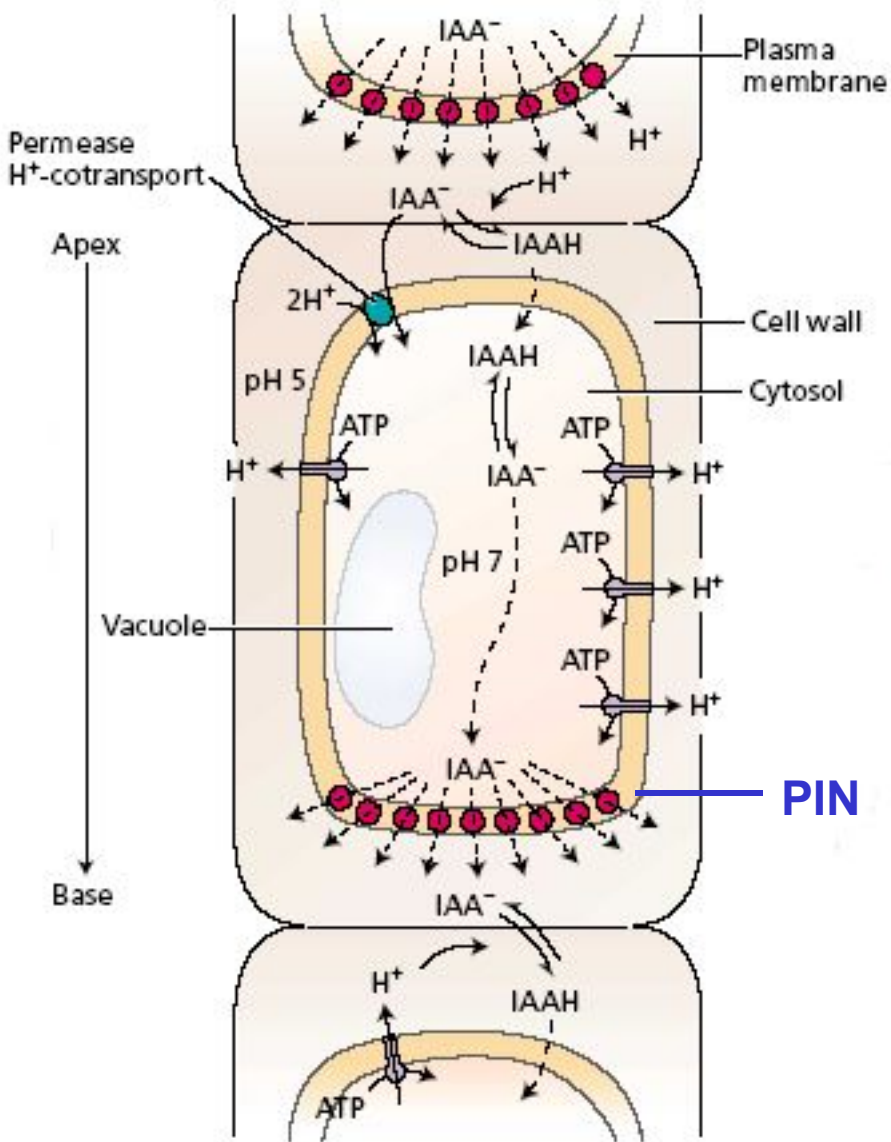
Флоральная меристема



Боковые корни

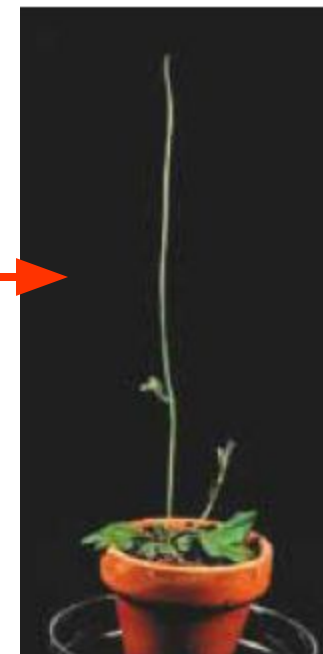
Полярный транспорт ауксинов (ПАТ) и инициация листа

← Направление ПАТ задают белки PIN, обеспечивающие выход ауксинов из клетки в определенном направлении



← Для PIN белков характерна полярная локализация на мембране

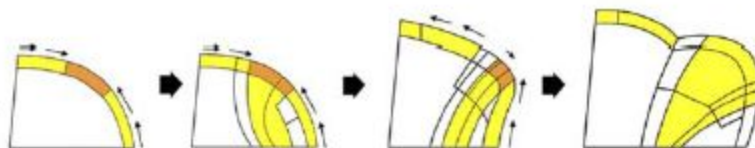
→ Мутанты *pin* (*pinformed*) формируют очень мало листьев и цветков



Полярный транспорт ауксинов и инициация листа

PIN1

■ high ■ medium

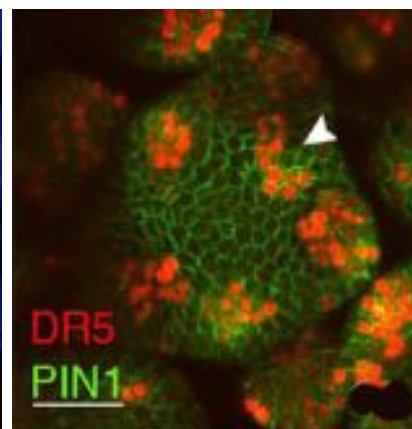
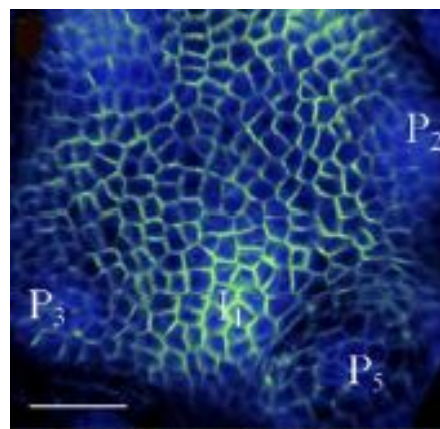
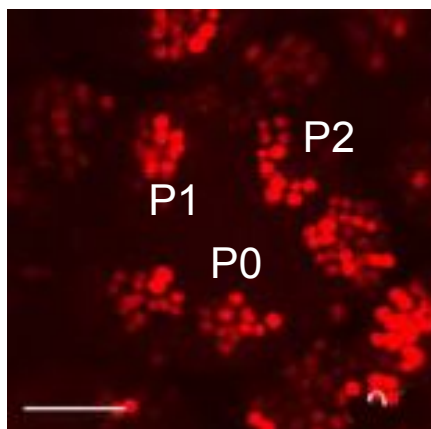


STM

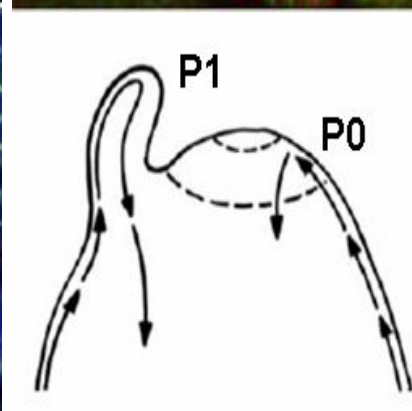
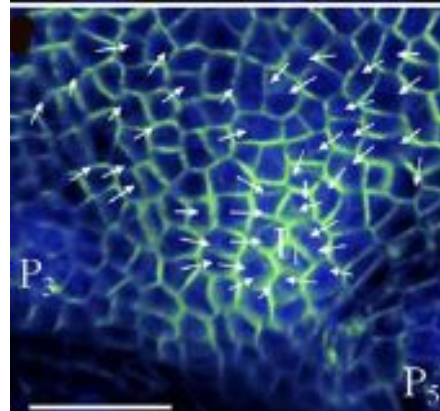
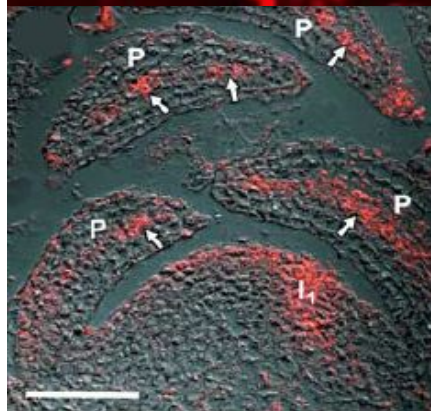
■ high ■ low



Гены *PIN1* и *STM* имеют комплементарный характер экспрессии в ПАМ



pDR5::3XVENUS-N7
pPIN1::GFP

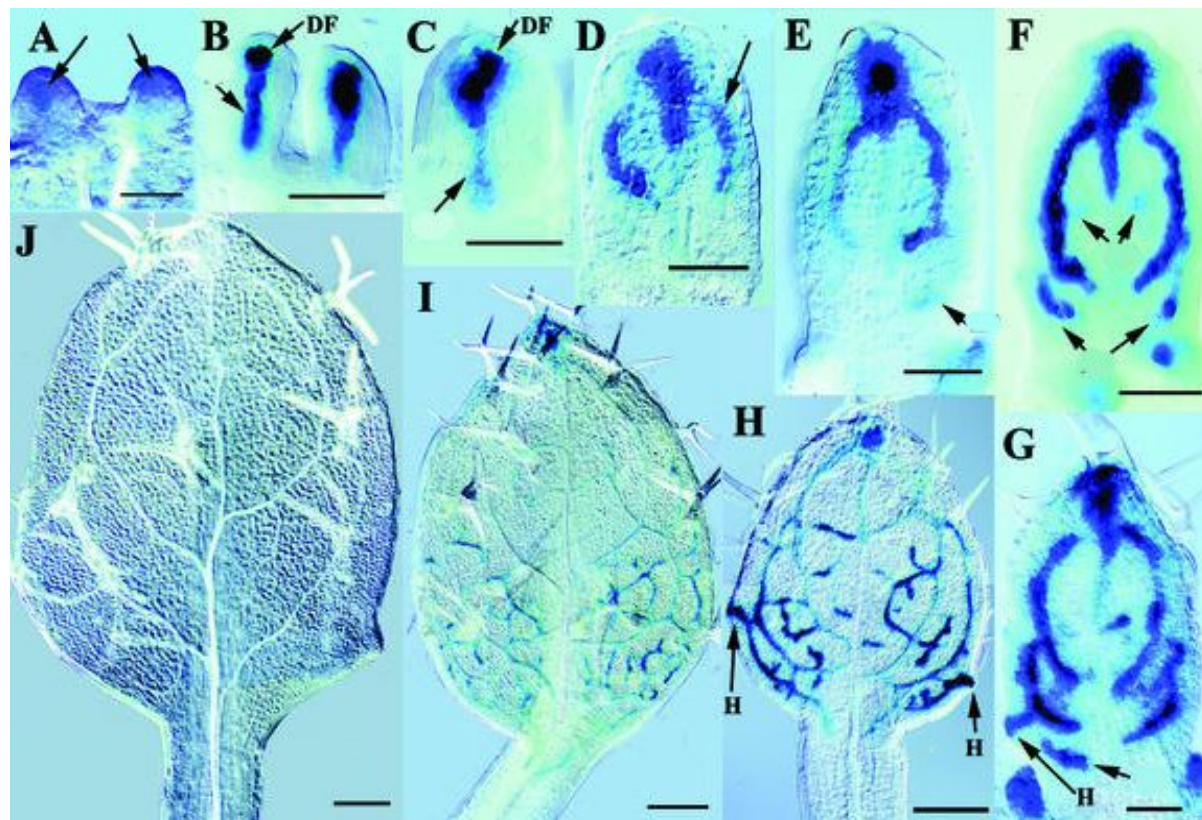
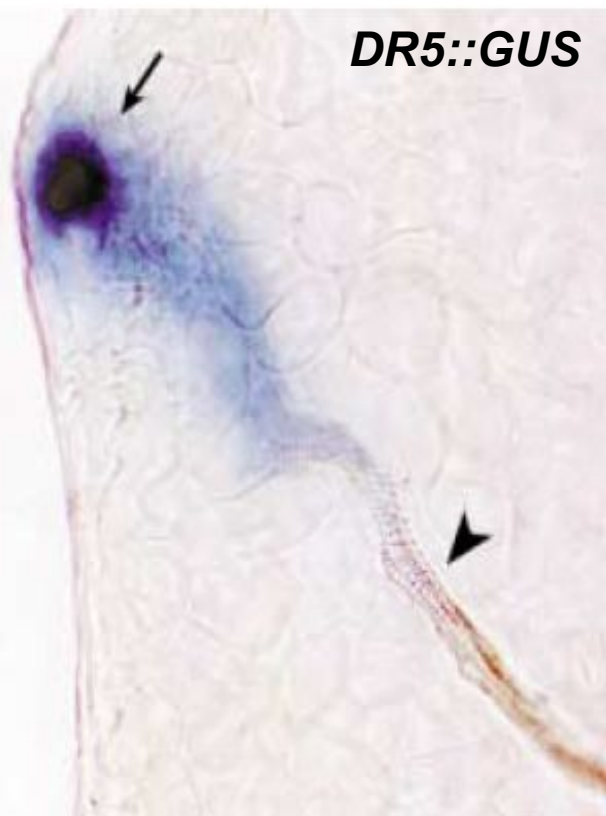


Направления ПАТ
в листовых
примордиях

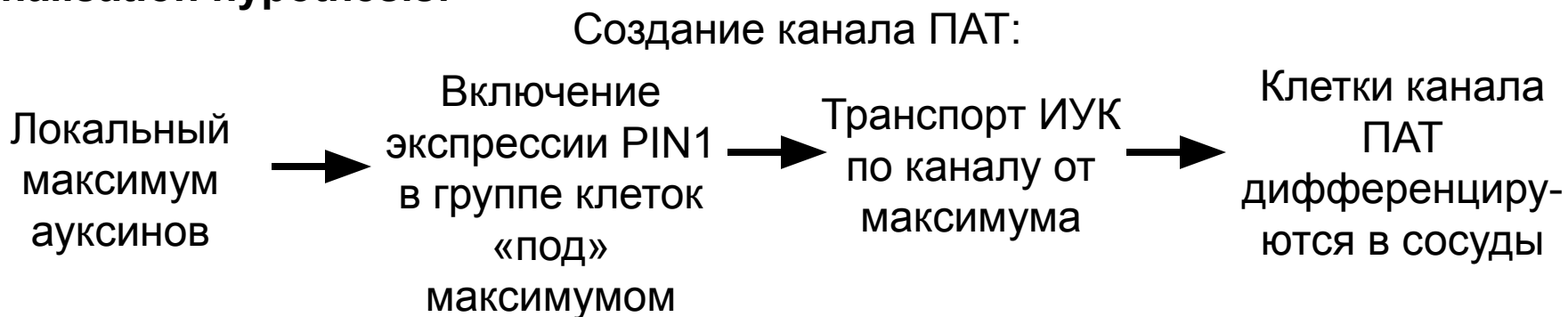
pDR5::3XVENUS-N7

pPIN1::GFP

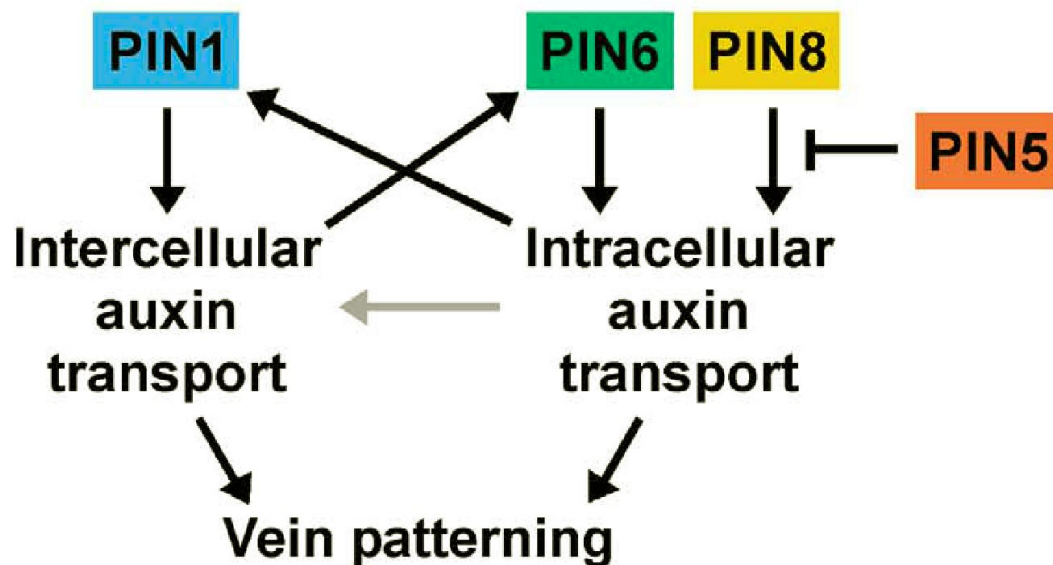
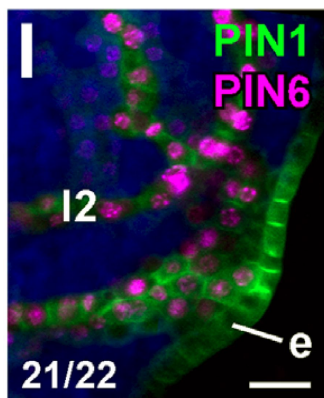
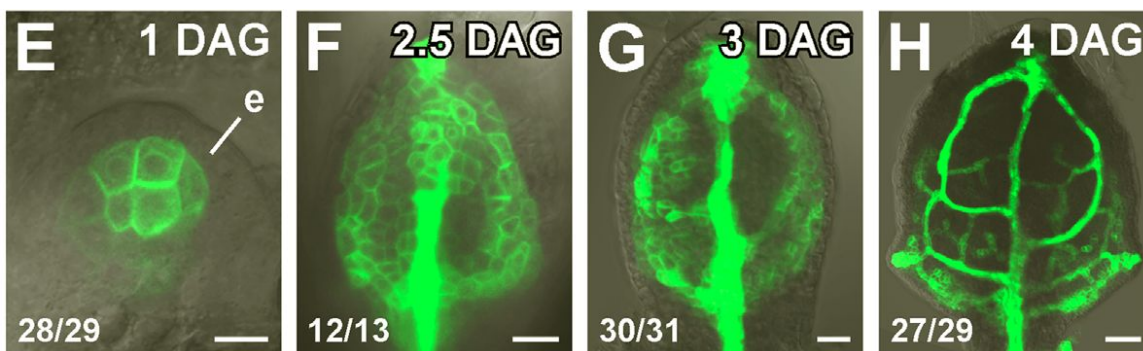
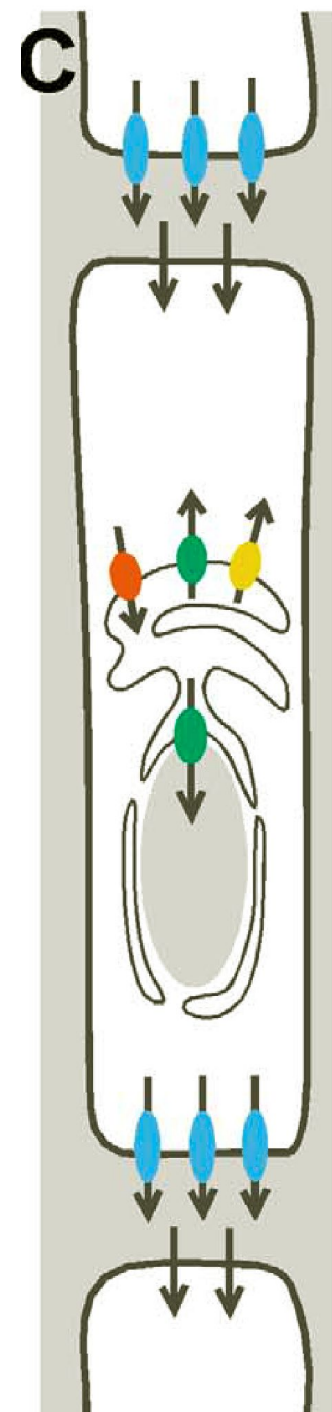
Ауксины контролируют развитие проводящей системы листа

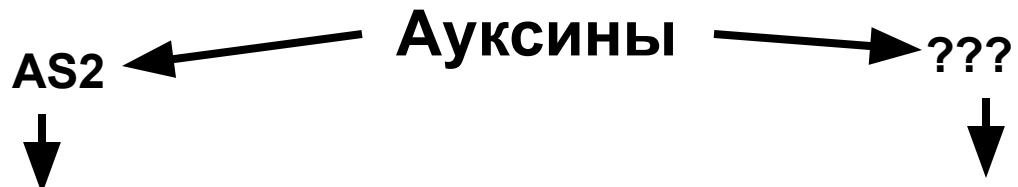


Canalisation hypothesis:



Для создания каналов ПАТ и закладки сосудов нужен не только PIN1, осуществляющий межклеточный транспорт ИУК, но и PIN5, 6, 8, осуществляющие ее внутриклеточный транспорт





Репрессия *KNOX*

Ограничение зон экспрессии
AS1, AS2, ANT

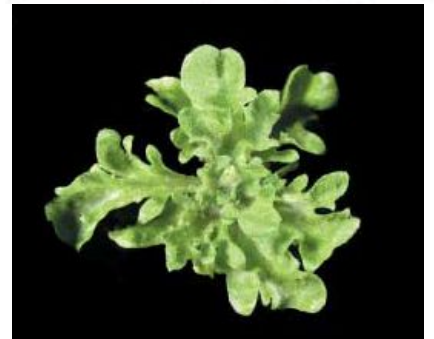
KNAT1::GUS



MS0



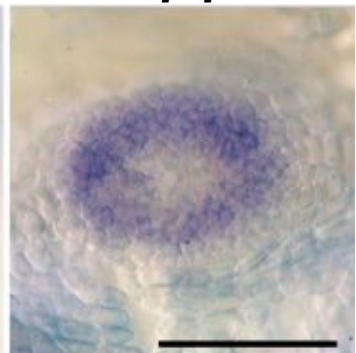
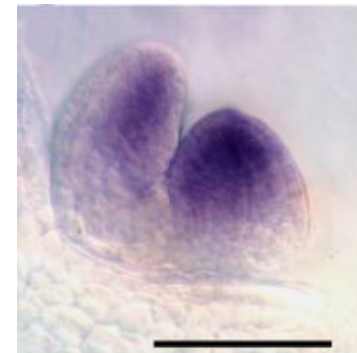
20 μM
TIBA



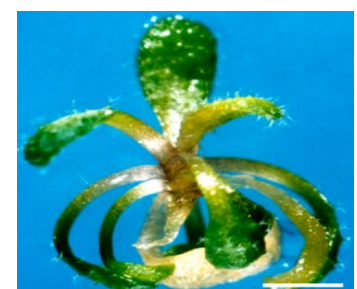
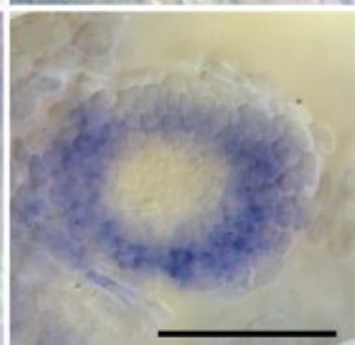
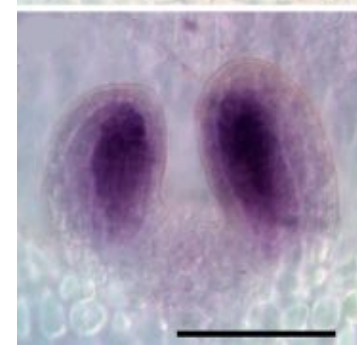
WT

mp pin1

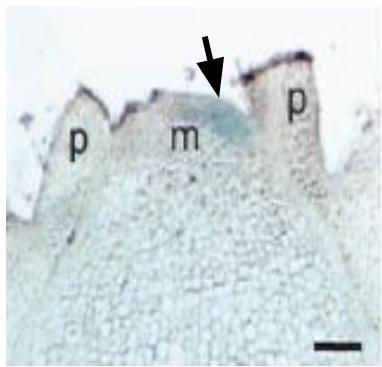
ANT



AS1



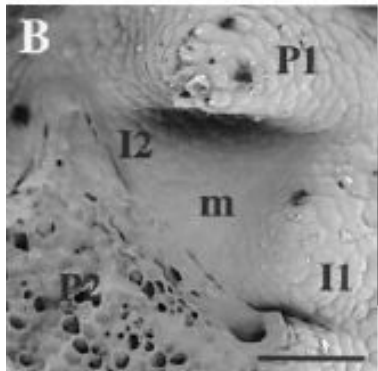
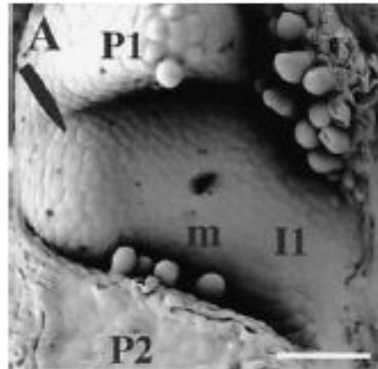
Ауксины стимулируют закладку листьев через активацию мембранных Н-АТФаз и экспансинов



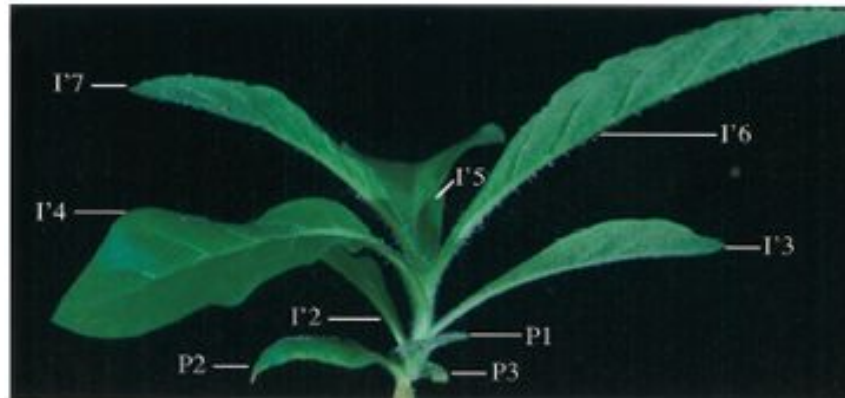
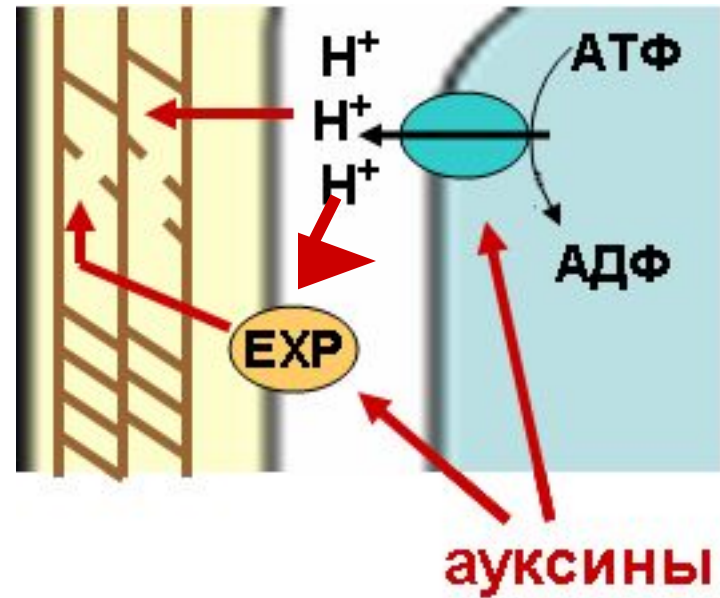
Локальная
индукция
экспрессии
гена *EXP1*



Закладка
листовых
примор-
диев

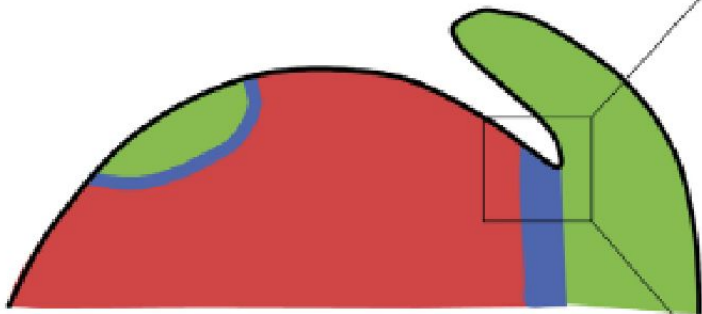


Формирование
листьев

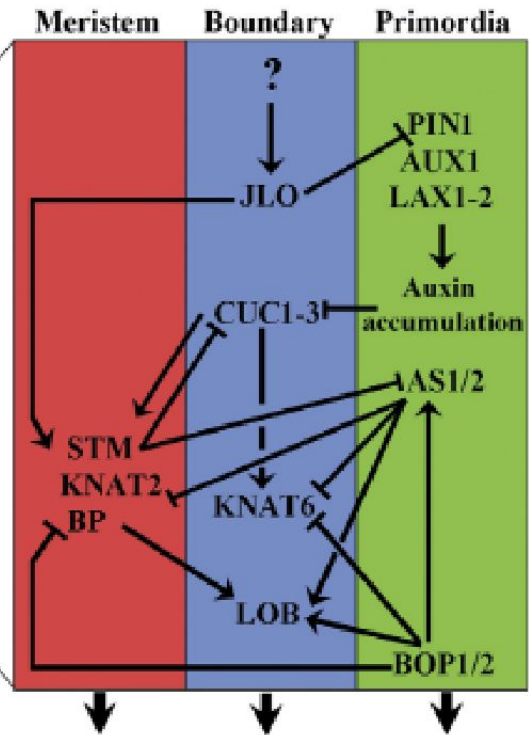


Отделение примордиев от ПАМ:

примордиев от ПАМ:



гены **JLO**, **CUC** и **LOB**



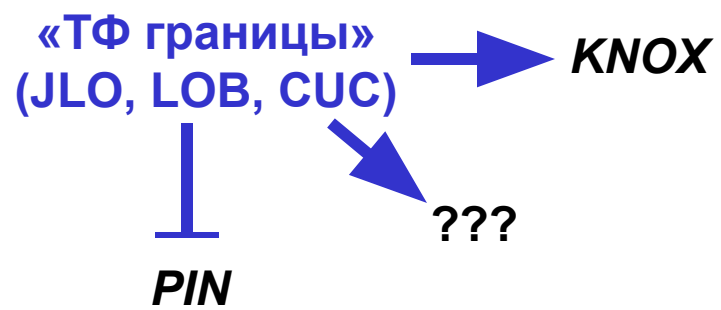
JLO
(JAGGED LATERAL ORGANS)

CUC1, 2, 3,
(CUP-SHAPED COTYLEDONES)

LOB
(LATERAL ORGAN BOUNDARY)

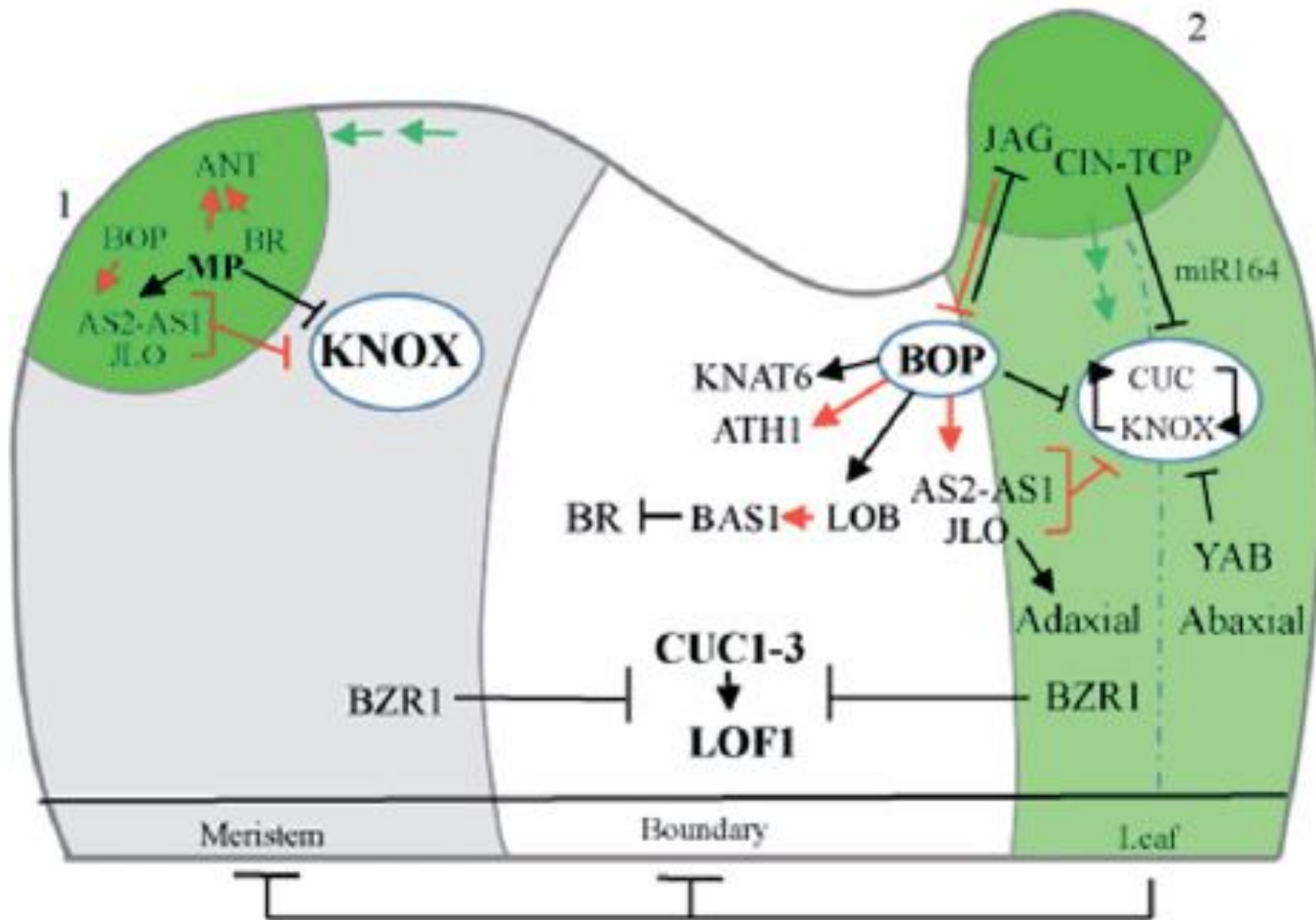
пролиферация клеток
отделение примордиев

дифференцировка клеток

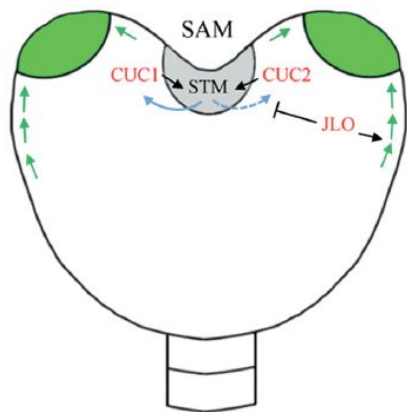


suc1 suc2 jlo («слабая аллель»)

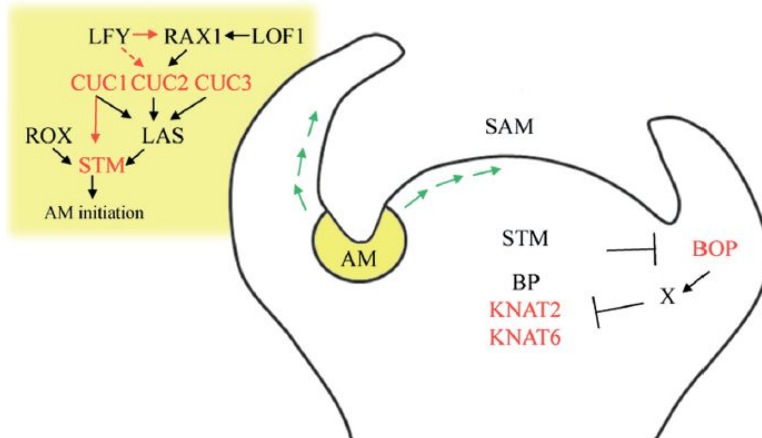
Генная сеть «домена границы»



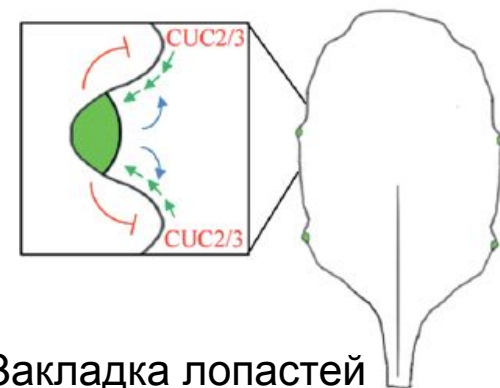
«ТФ границы» важны на всех этапах развития растения



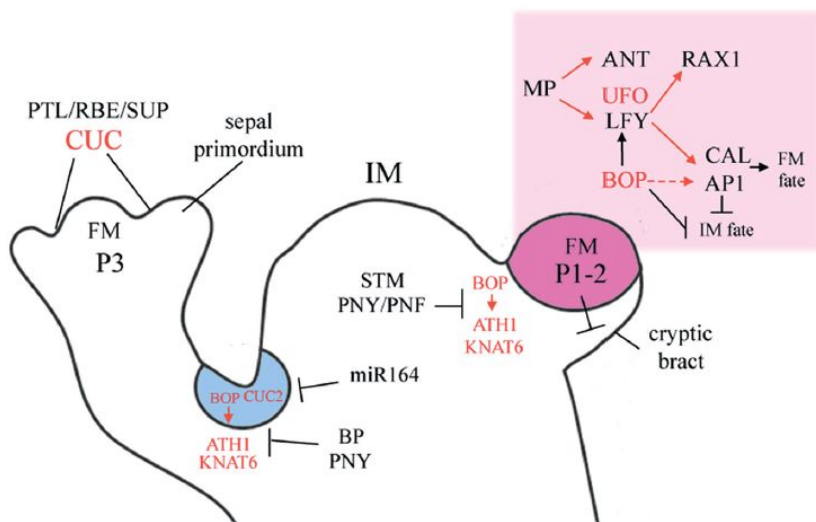
Закладка ПАМ в эмбриогенезе



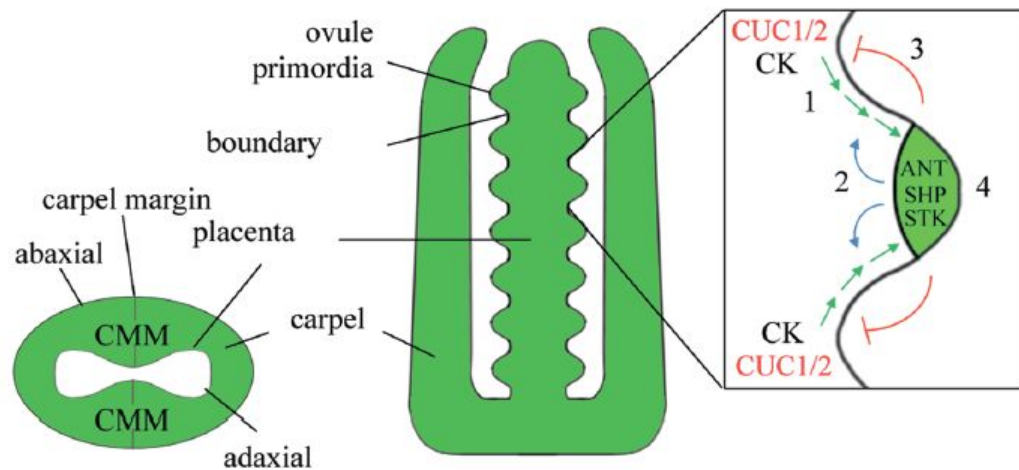
Закладка пазушных меристем



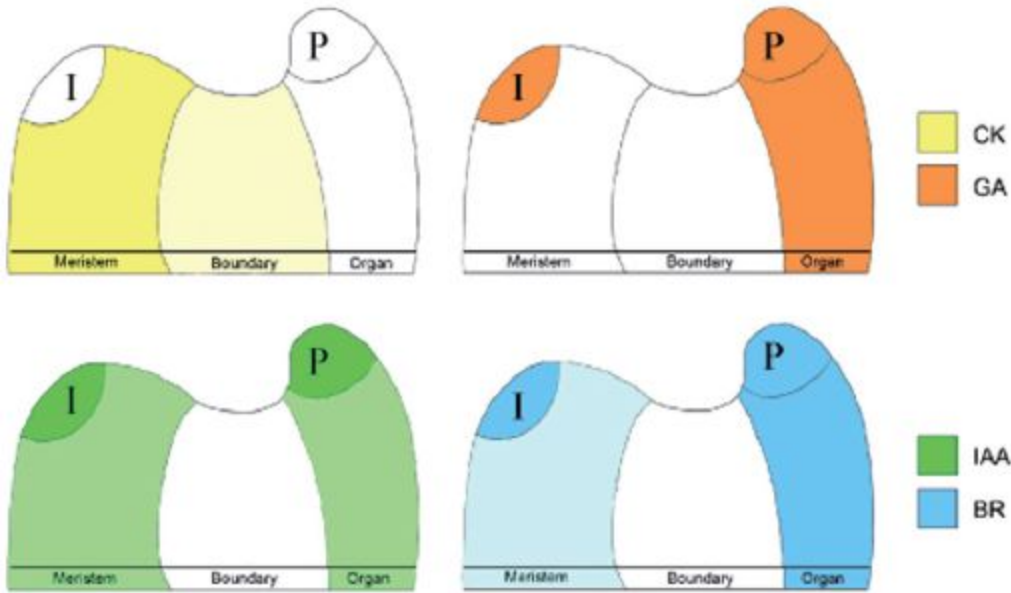
Закладка лопастей сложного или рассеченного листа



Закладка флоральной меристемы

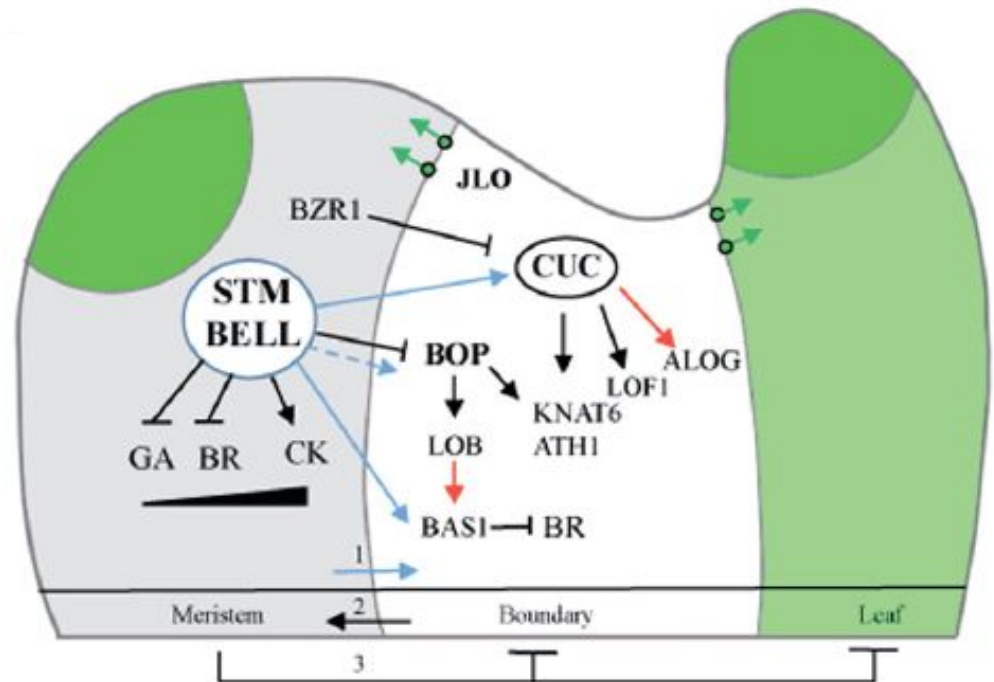


Закладка органов цветка (завязь)



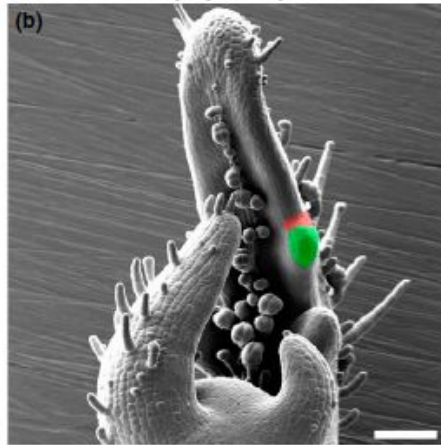
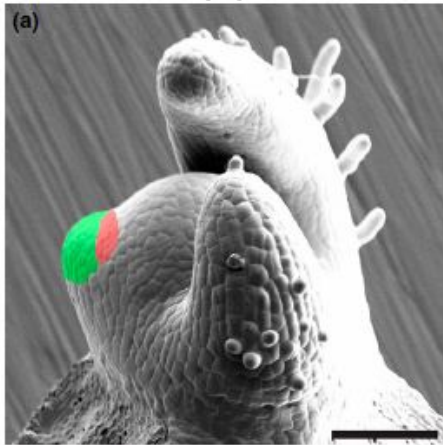
Зона «домена границы» свободна от гормонов

Регуляция биосинтеза и транспорта гормонов ТФ границы

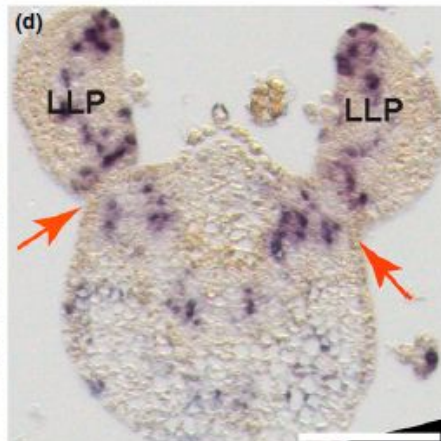
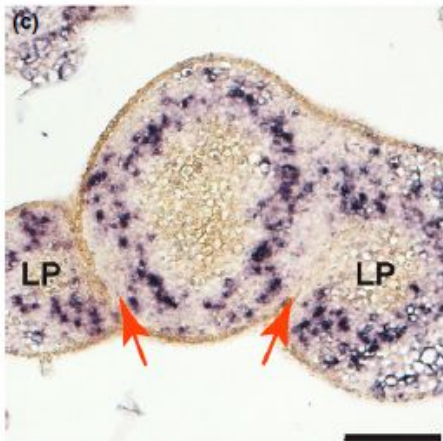


leaf

leaflet



Иммуно-
локализация:

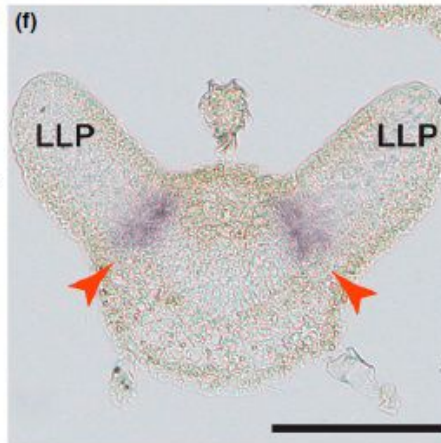
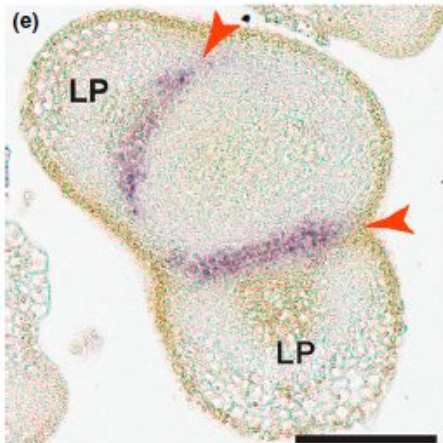


ГИСТОН Н4

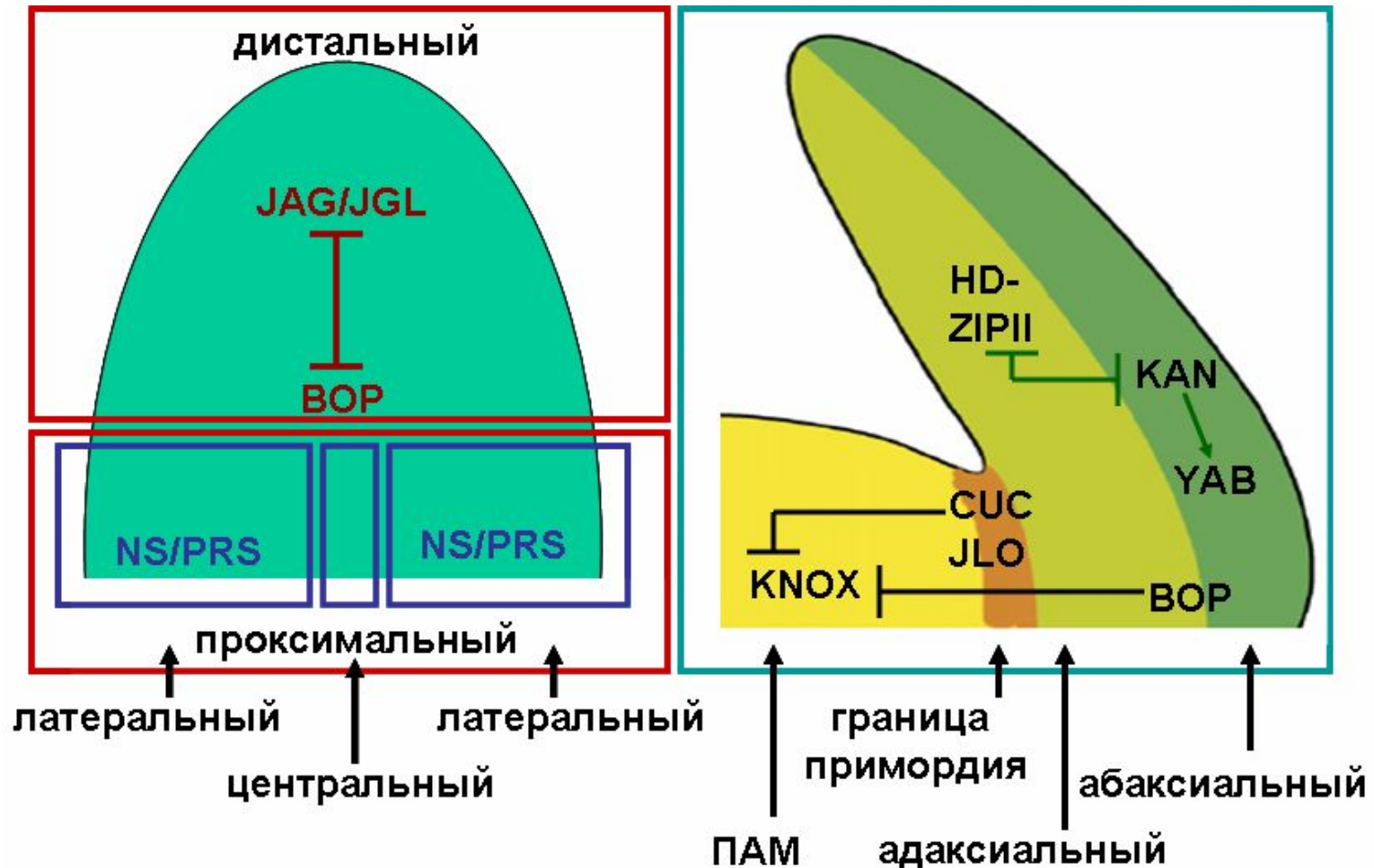
(маркер
деления
клеток)

Домен границы
есть как в листовых
примордиях (А), так
и в примордиях
компонентов
сложного листа (В)

CUC2

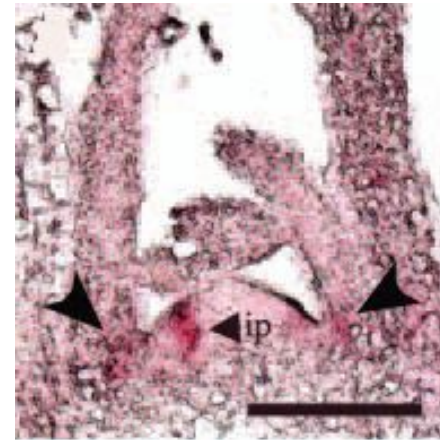
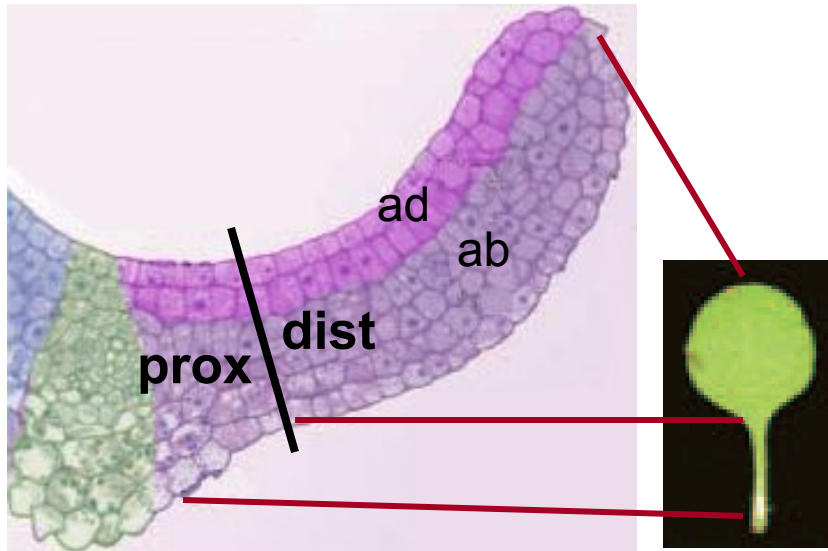


Определение симметрии листа – разметка доменов

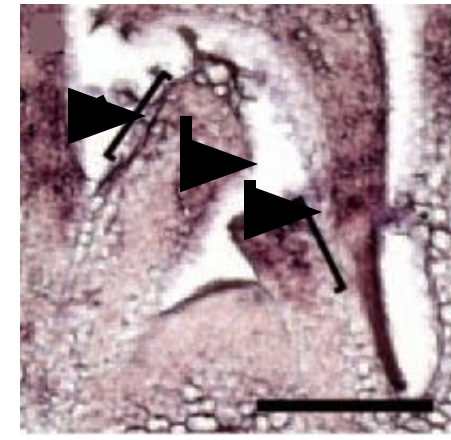


Идентичность разных доменов контролируют определенные ТФ

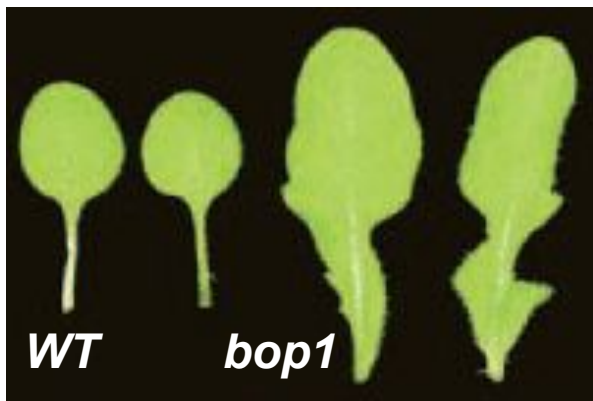
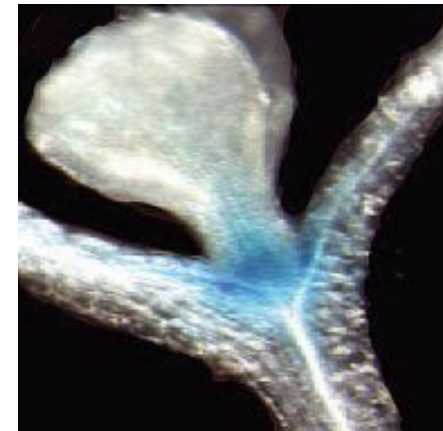
Идентичность проксимального и дистального доменов листа - гены *BLADE ON PETIOLE (BOP)* и *JAGGED (JAG)*



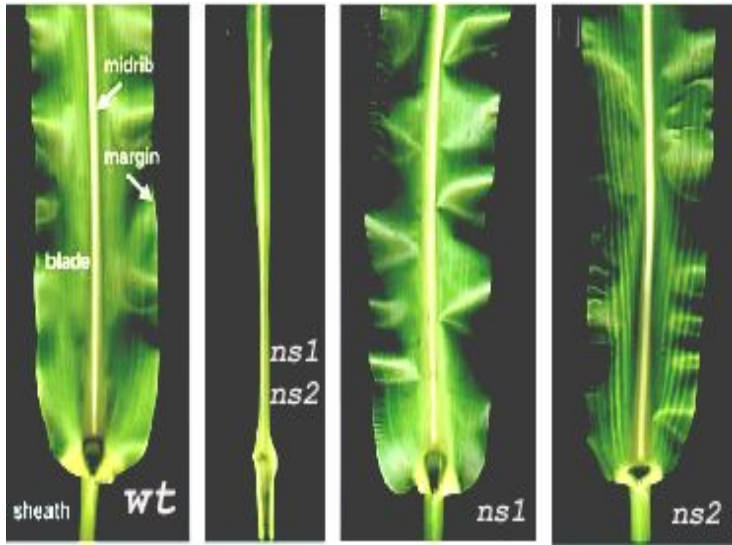
BOP2



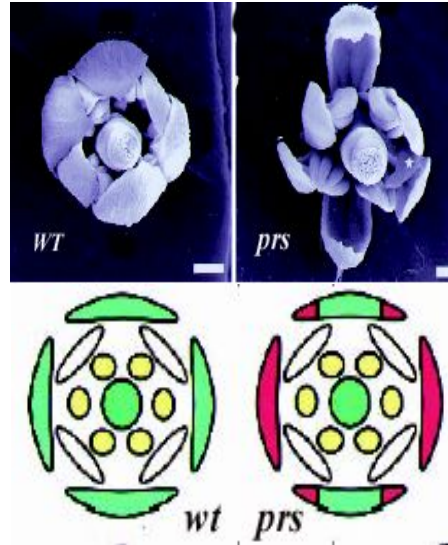
JAG



Развитие латеральных доменов листа (leaf margins) – гены *WOX1* и *WOX3*

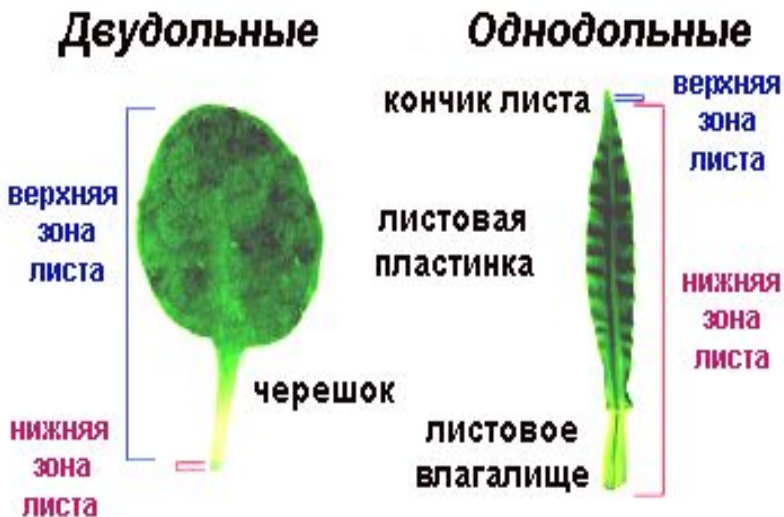


ns (*narrow sheath*) – листья без краевых доменов

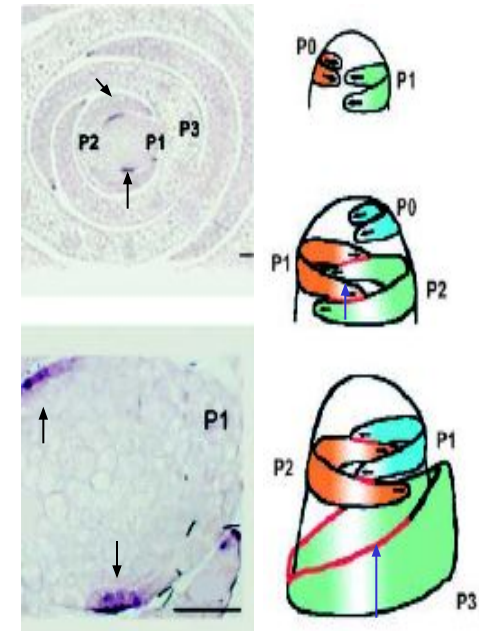


prs (*pressed flower*) – узкие чашелистики

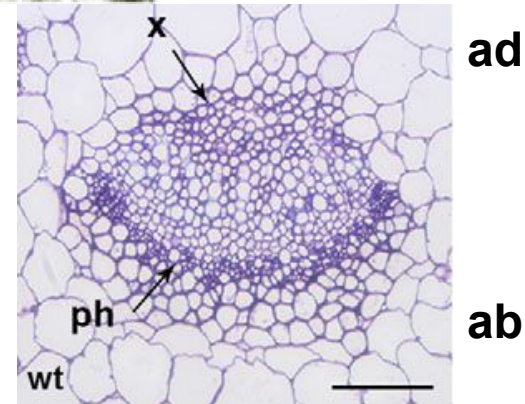
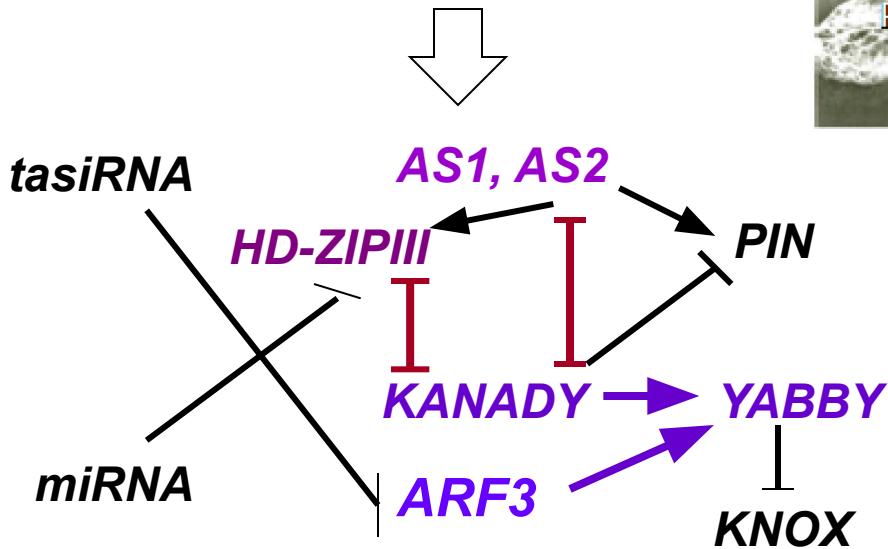
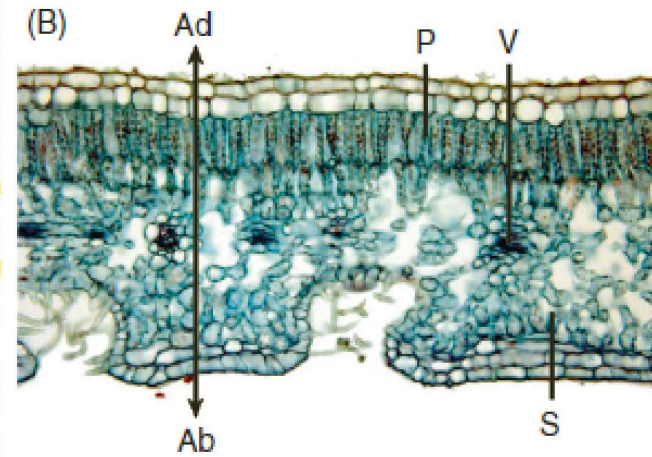
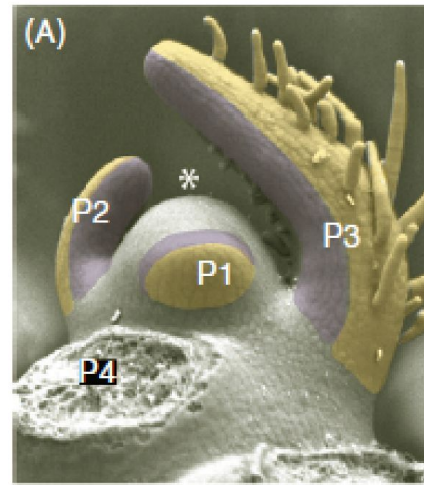
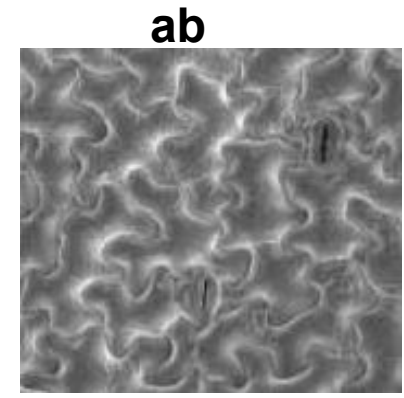
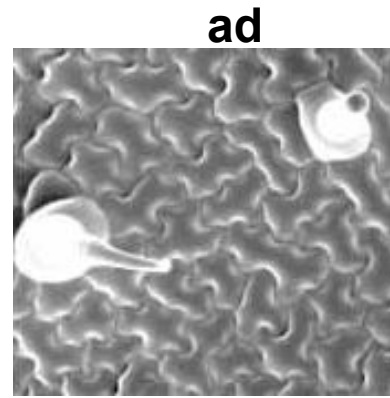
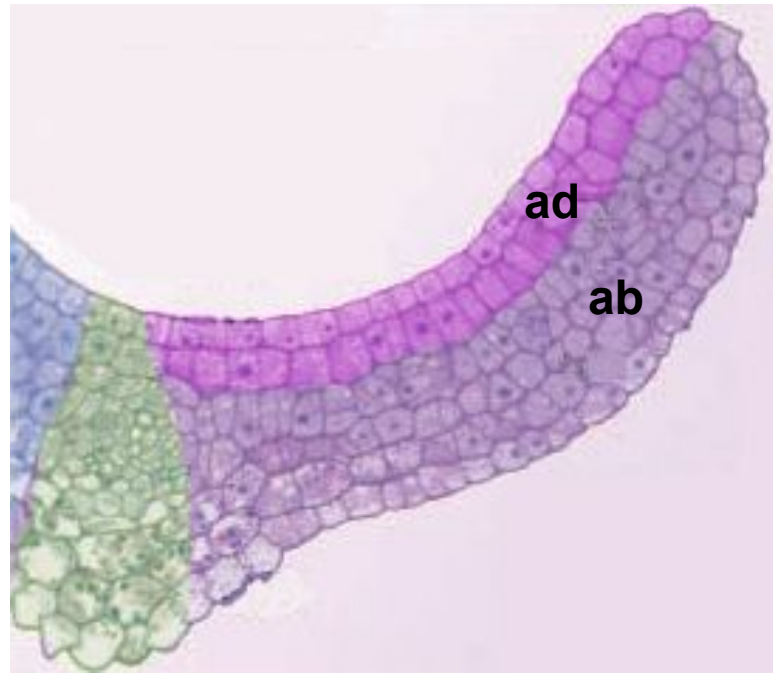
Продукты генов *NS/PRS* – ТФ *WOX3*

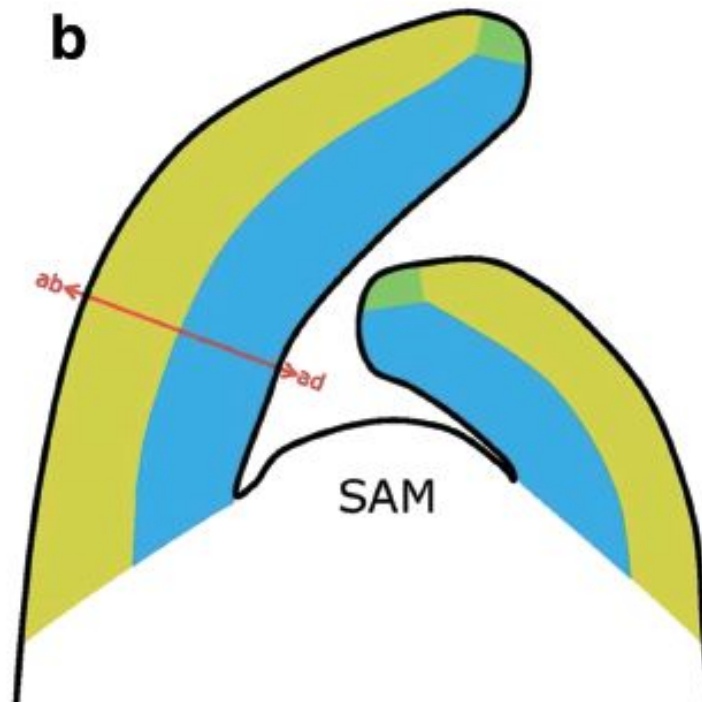
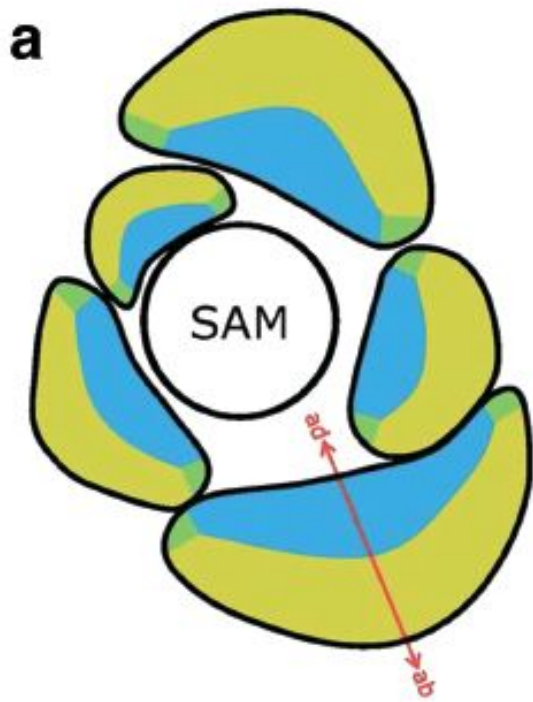


Разные схемы развития листа у однодольных и двудольных

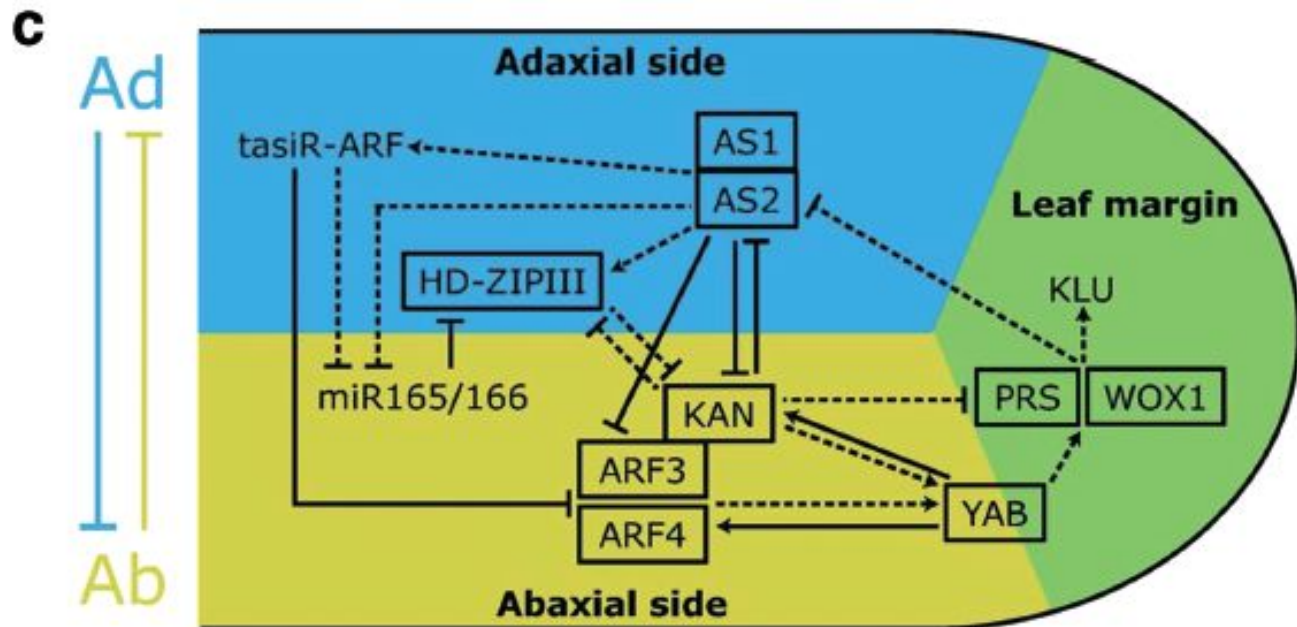


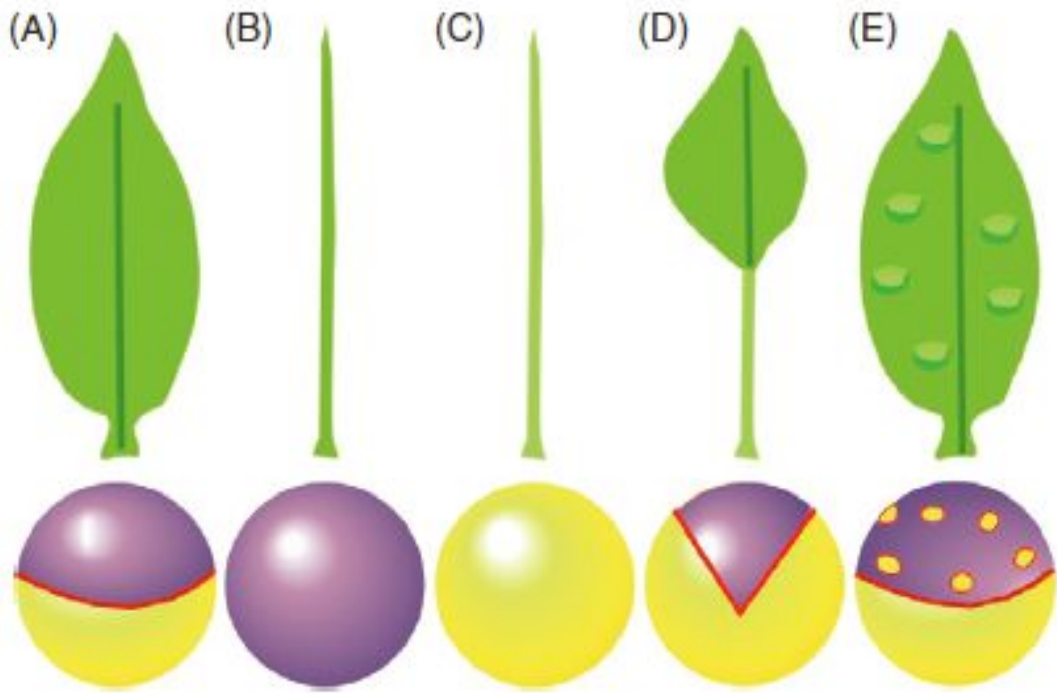
Определение адаксиально-абаксиальной полярности листа



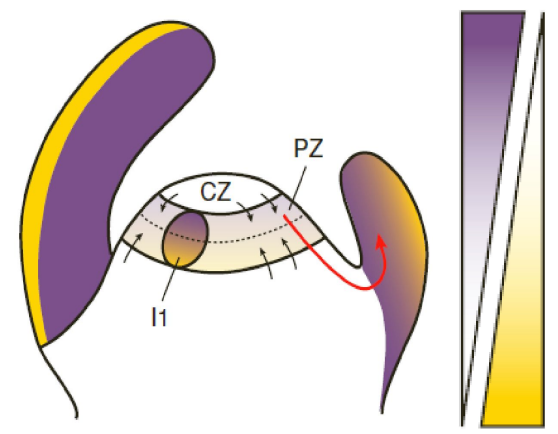


Контроль развития адаксиального, абаксиального и латерального (краевого) доменов



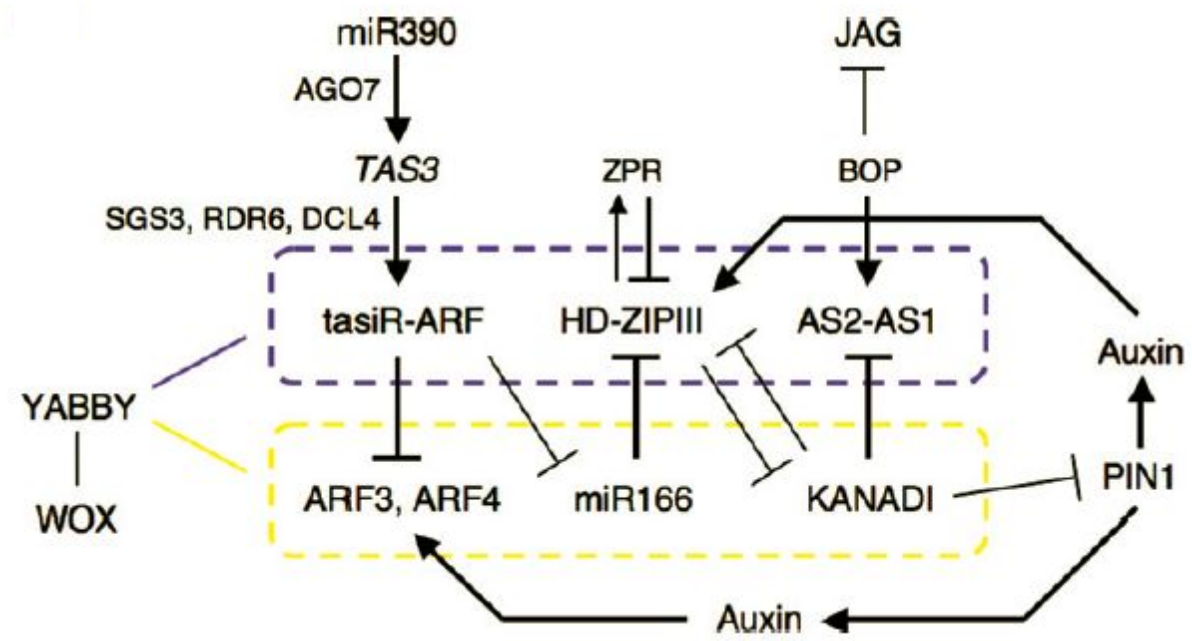


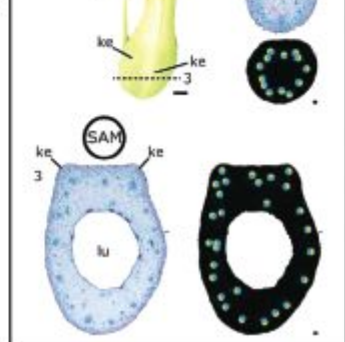
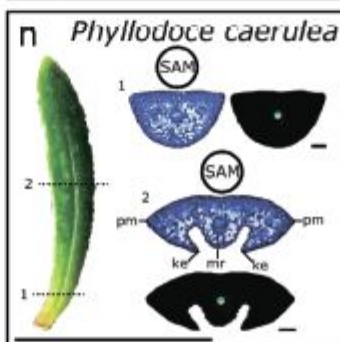
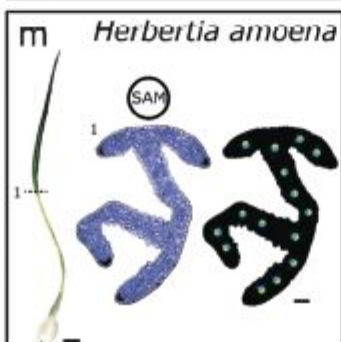
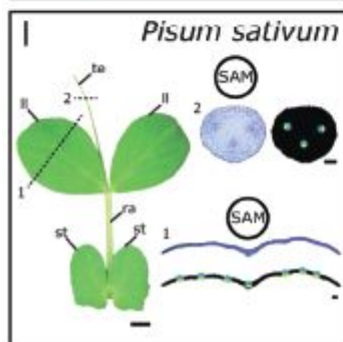
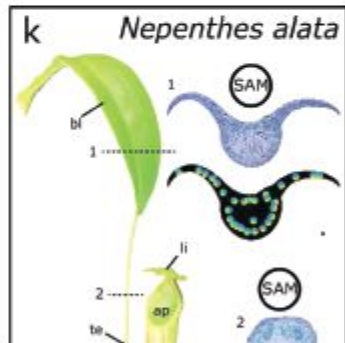
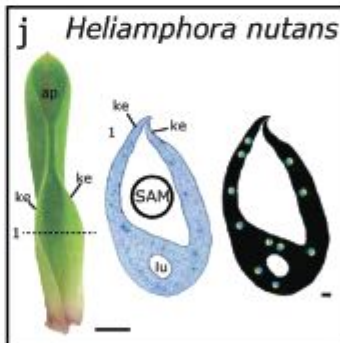
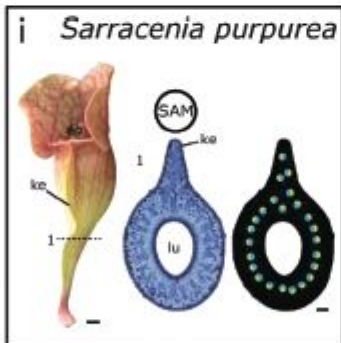
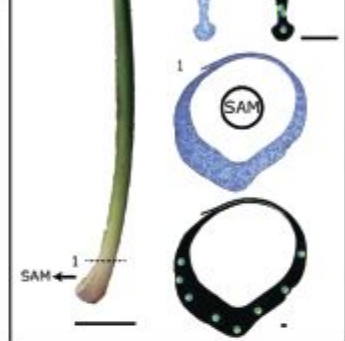
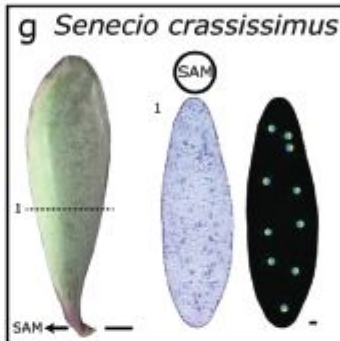
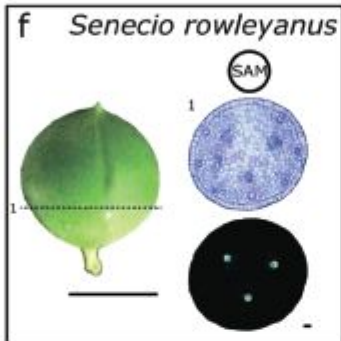
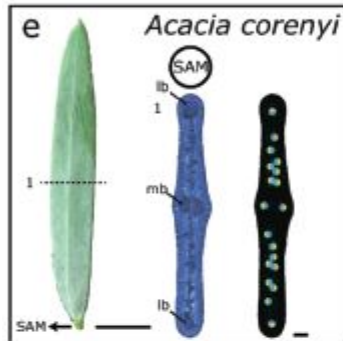
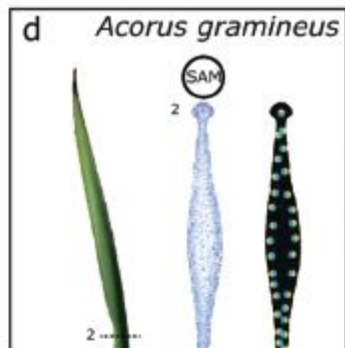
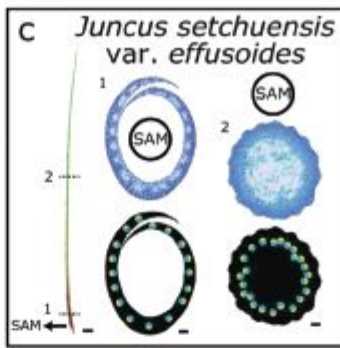
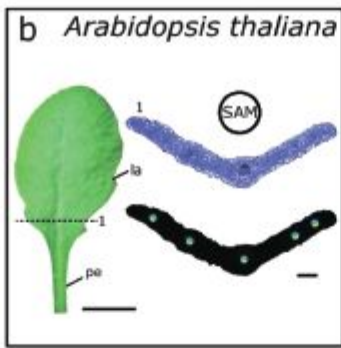
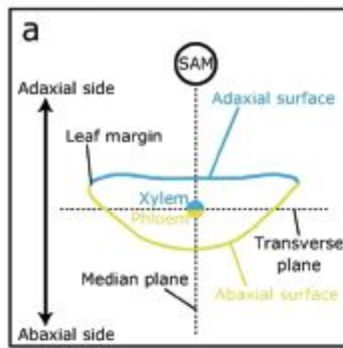
Форма листа зависит от соотношения ad и ab сторон



Регуляция ad-ab полярности листа:

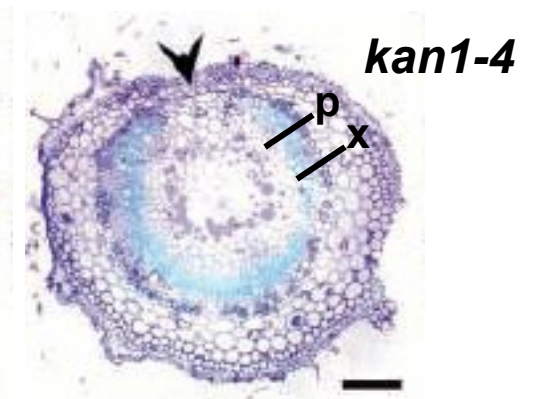
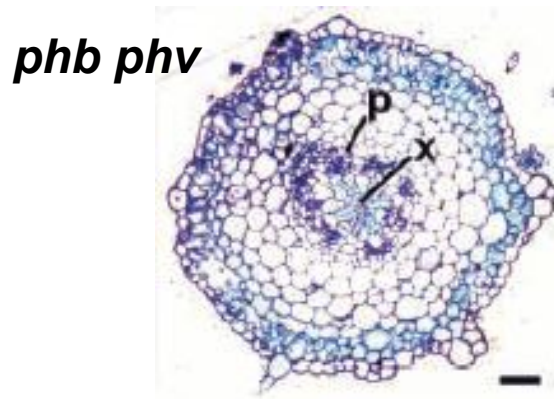
Взаимодействие разных семейств ТФ и миРНК





HD-ZIPIII:

PHABULOSA (PHB),
PHAVOLUTA (PHV),
REVOLUTA (REV)



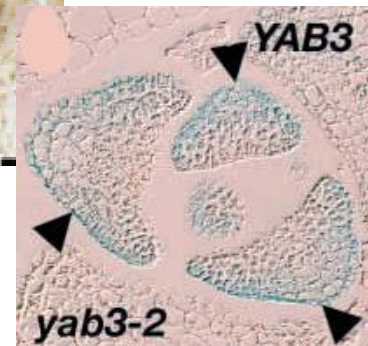
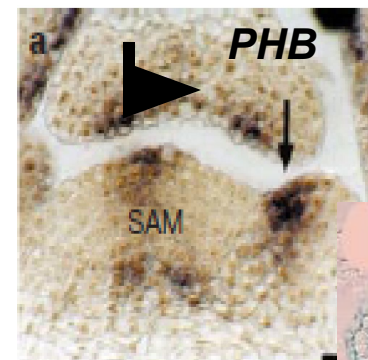
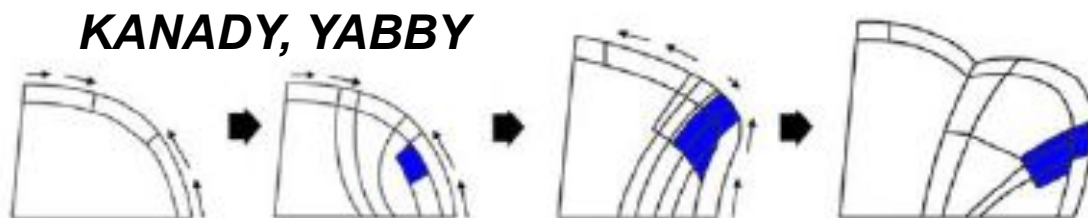
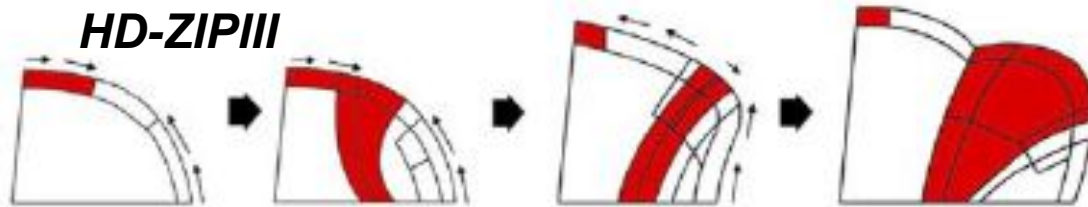
KANADY:

KANADY 1-4 (KAN1-KAN4)
(ТФ семейства GARP)

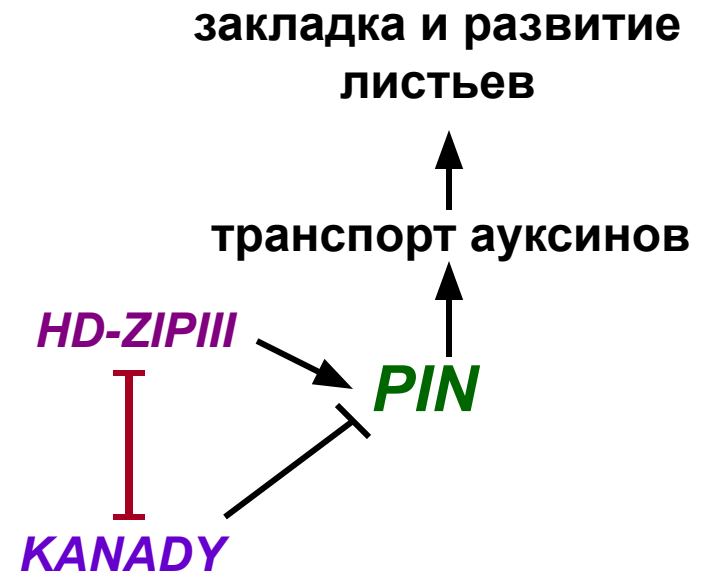
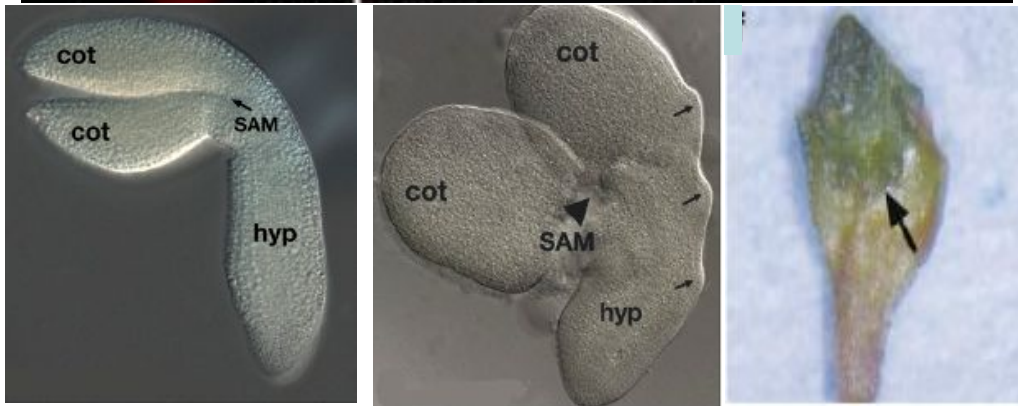
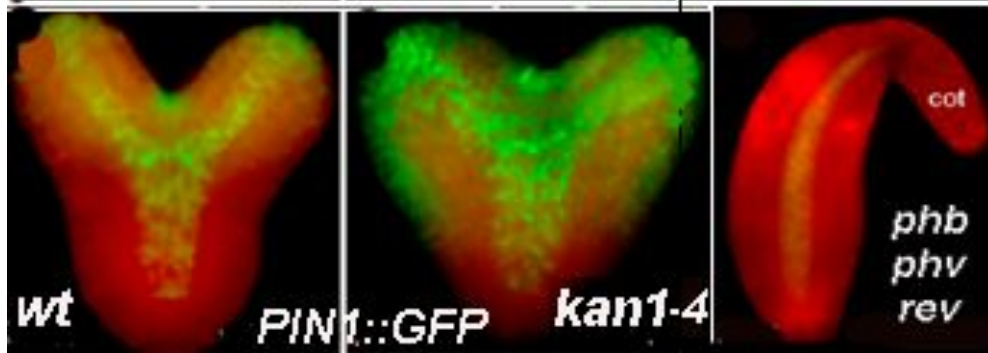
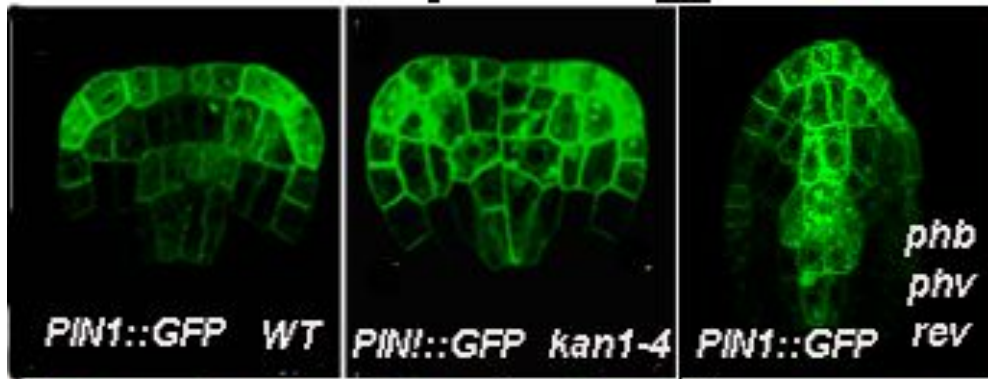


YABBY:

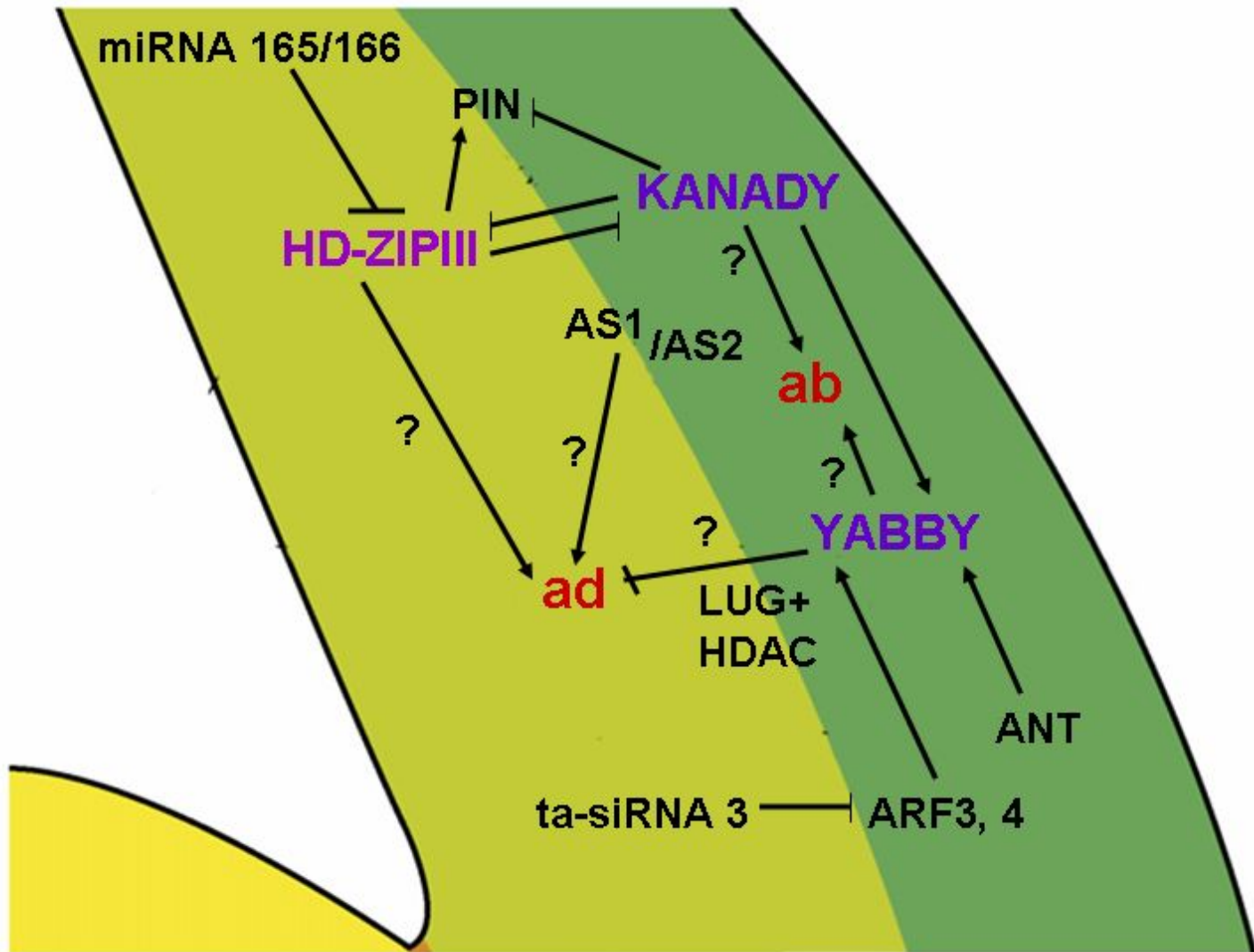
YABBY2 (YAB2),
YABBY3 (YAB3),
FILAMENTOUS FLOWER
(FIL)



Антагонизм транскрипционных факторов KAN и HD-ZIPIII в контроле распределения белка PIN1



Другие регуляторы адаксиально-абаксиальной полярности листа



ТФ AS1, AS2 □ **ad**

tasiRNA3 □ **ad**

ТФ ANT □ **ab**

ТФ ARF3/4 □ **ab**

miRNA165/166 □ **ab**

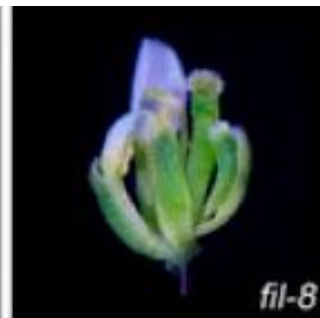
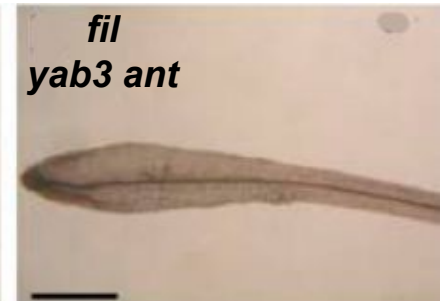
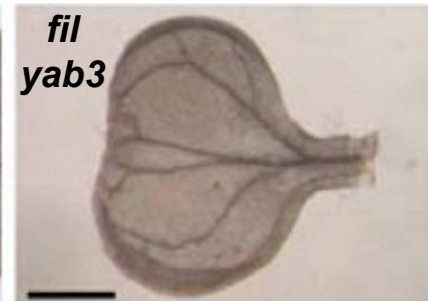
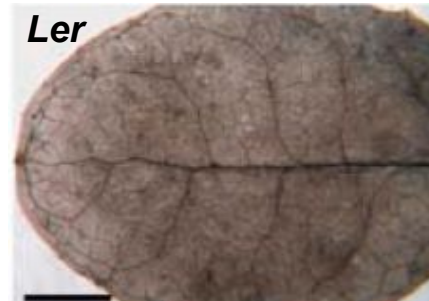
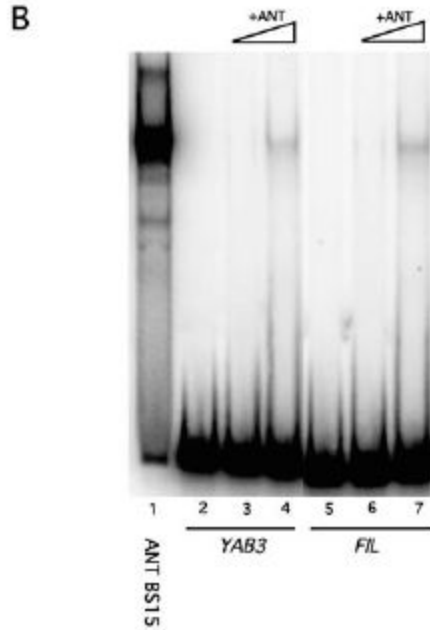
ТФ ANТ напрямую регулирует экспрессию генов *YABBY*

A

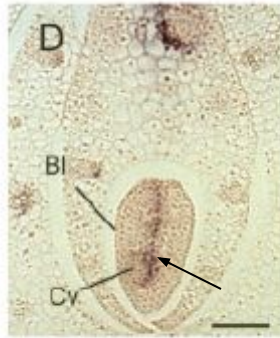
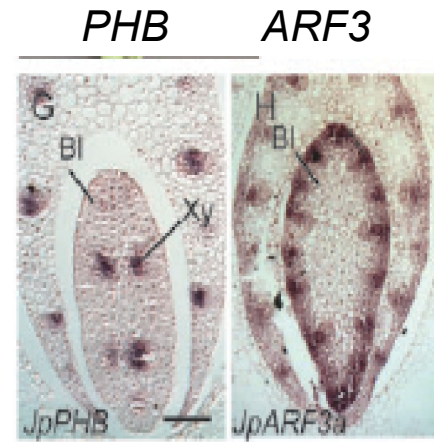
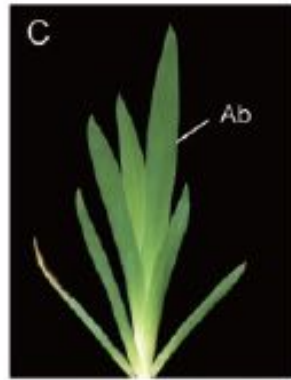
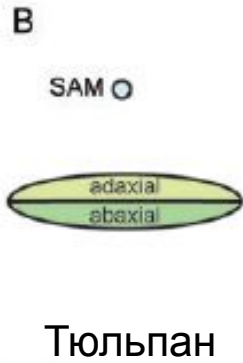
ANT consensus site 5' GCAC^G_A^TATCCC^A_G^TANG^T_C 3'

FIL -1755 TGACAACAAACGGGTGAATGAGGCGACGCTTAATCACTCCCATGCACACGTCCC^TTTCT -1698

YAB3 -1553 TGAAAACAAC^TGATGAATGAGCCTTTGCTTAATCACTTCCATGCACAAGTCCC^TTTCC -1496



Определение формы листа у однодольных



G Monocot bifacial leaf

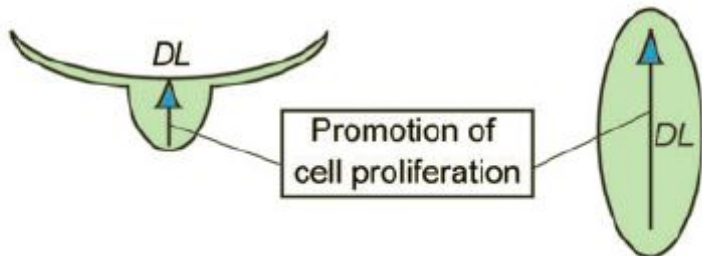
Flattened unifacial leaf

Cylindrical unifacial leaf

Midrib formation

Lamina outgrowth

Weak DL function



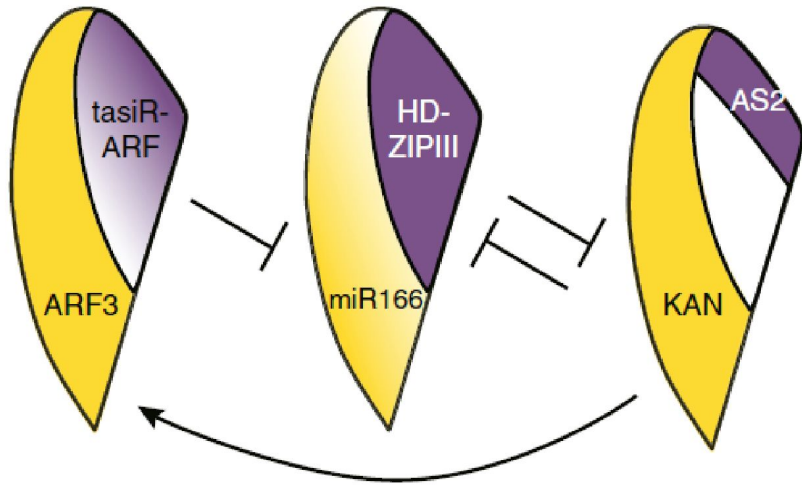
«абаксиализация»

DROOPING LEAF
(сем-во генов *YABBY*)

Пролиферация
клеток

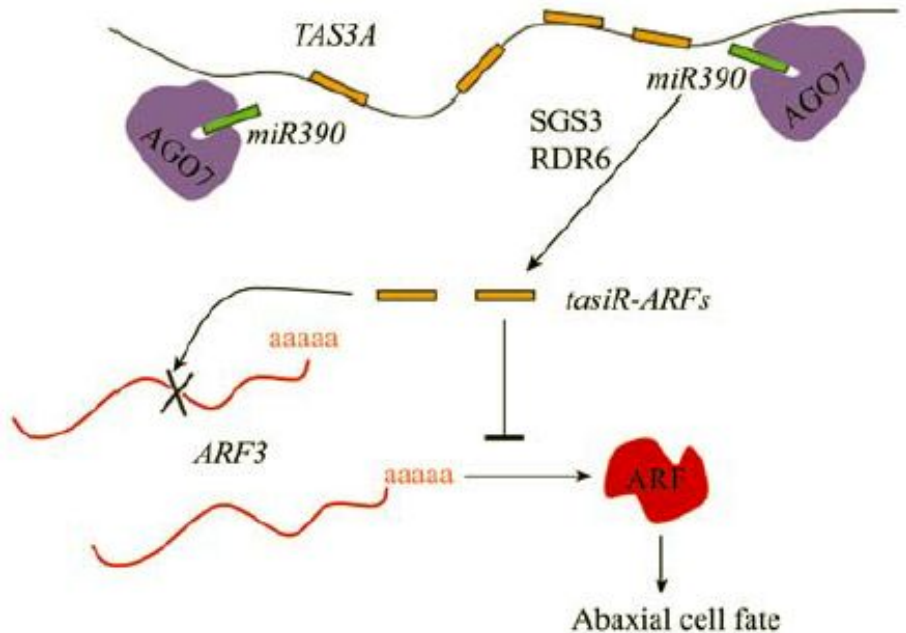
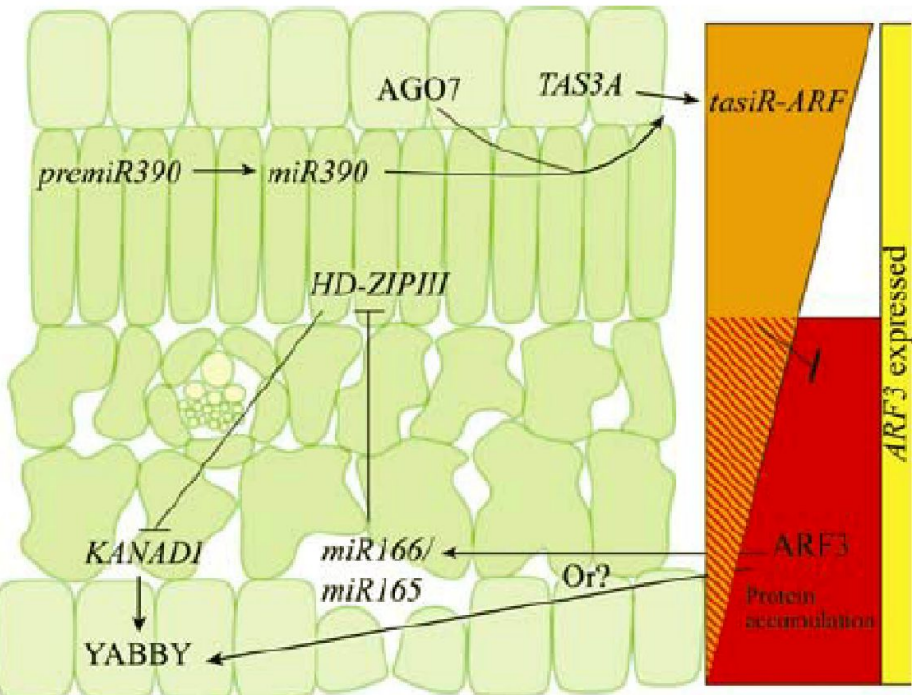
Вторичное
уплощение
листа

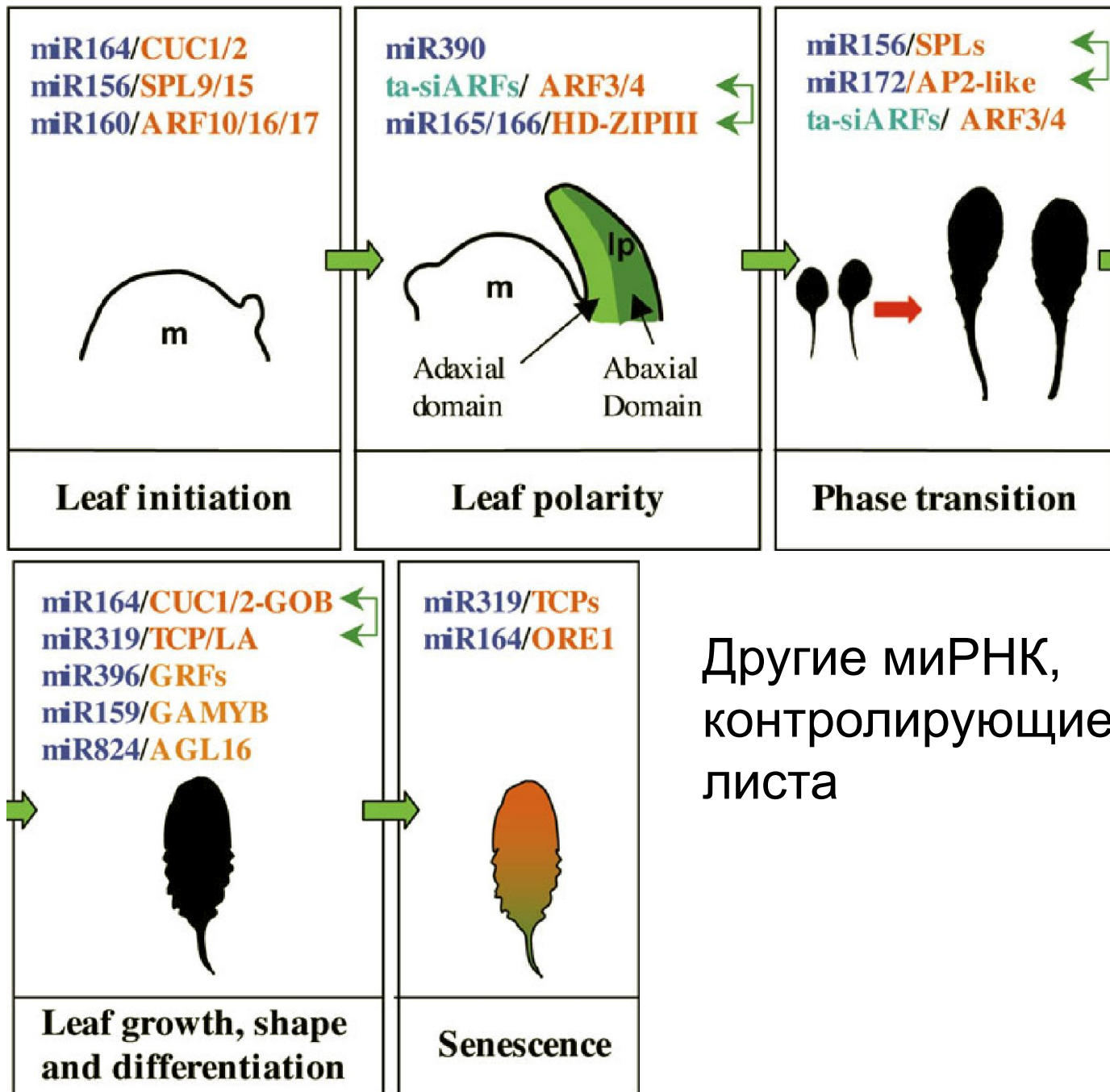
МикроРНК в определении ад-аб полярности



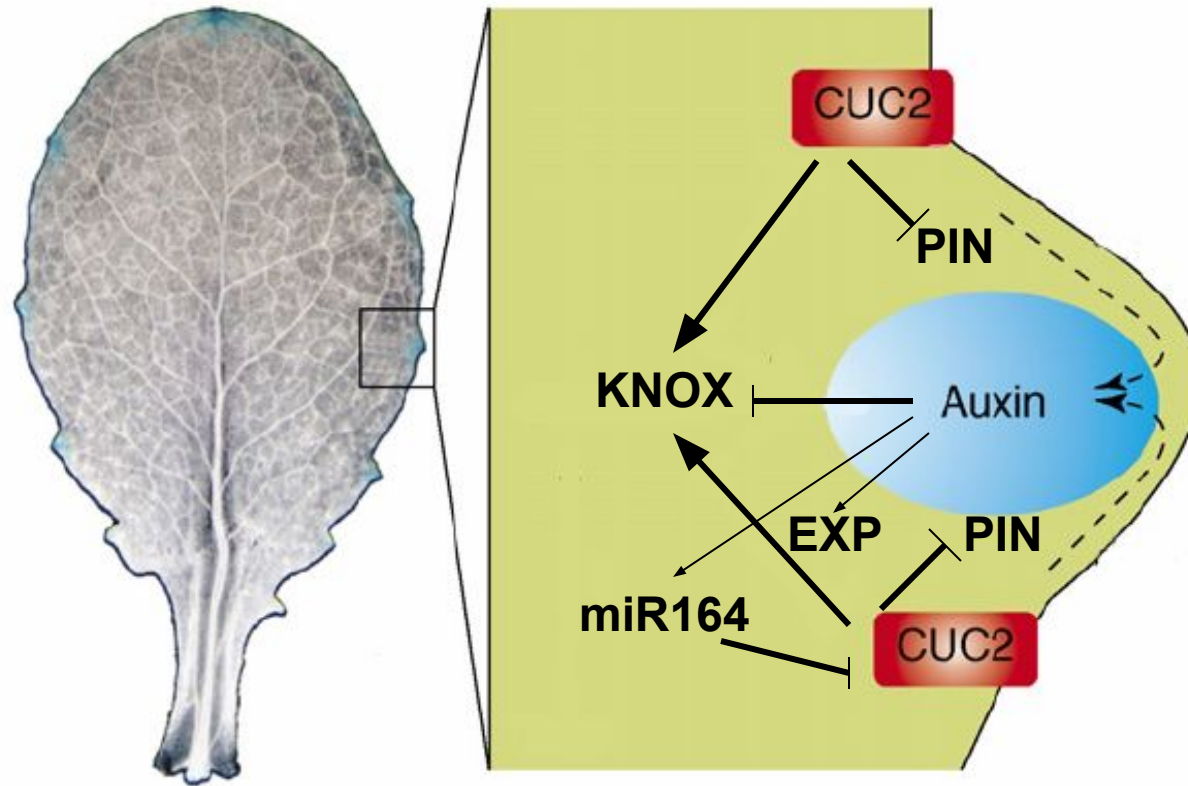
tasiR3a – репрессор аб стороны. Мишень: транскрипты ARF3

miR166 – репрессор ад стороны. Мишень: транскрипты HD-ZIPIII





При развитии лопастей сложного листа действуют те же механизмы, что при закладке листовых примордиев в ПАМ



1. Возобновление экспрессии *KNOX* генов
2. Создание локального максимума концентрации ауксинов
3. Определение границы
4. Определение полярности

Для развития сложного листа необходимо возобновление экспрессии генов *KNOX* в примордии

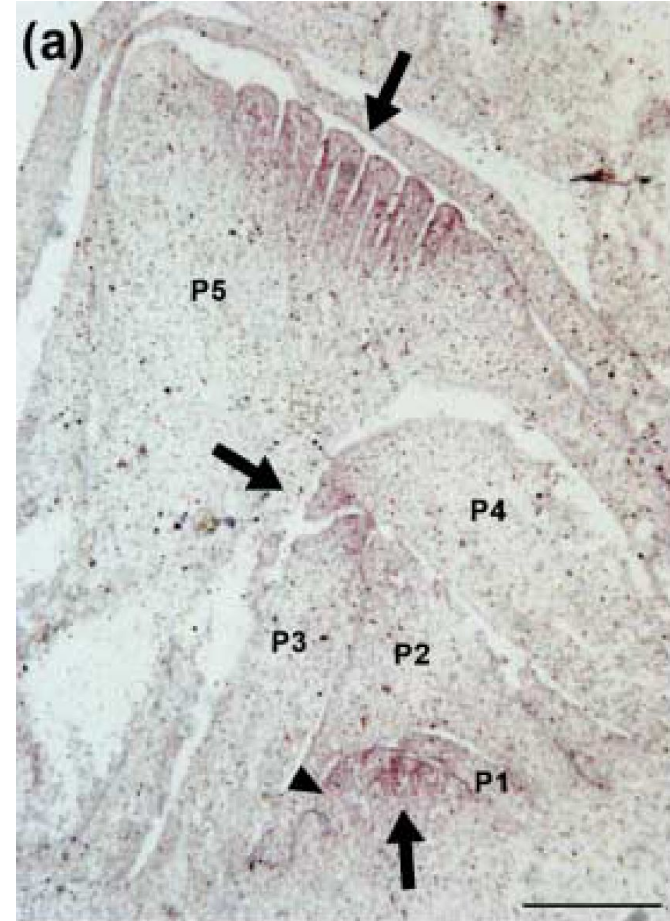
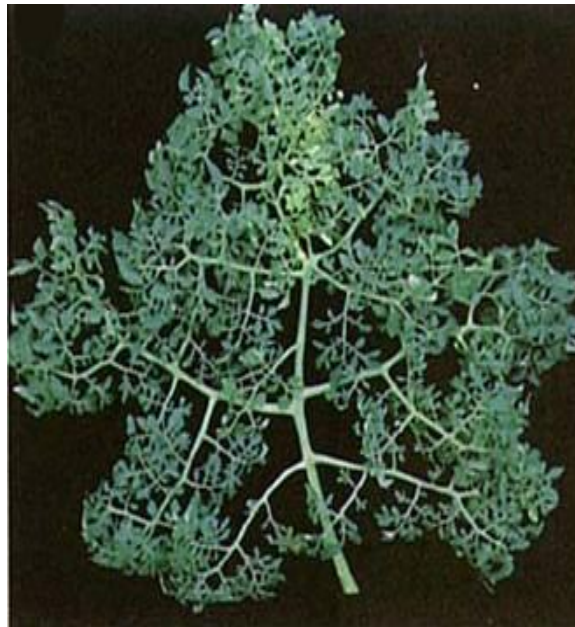
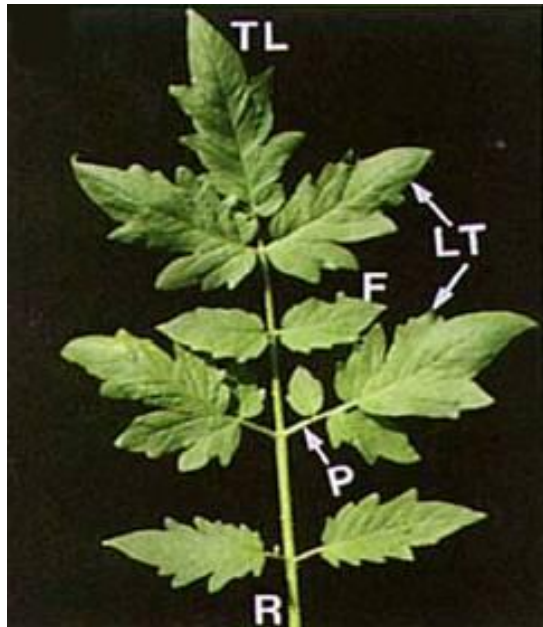
WT

35S::KNAT1

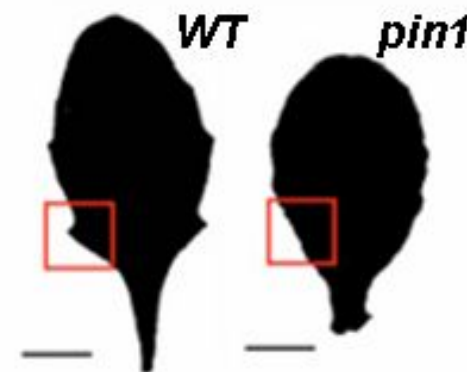
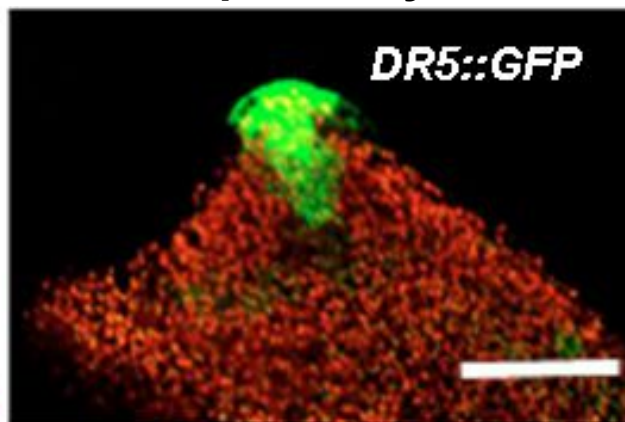
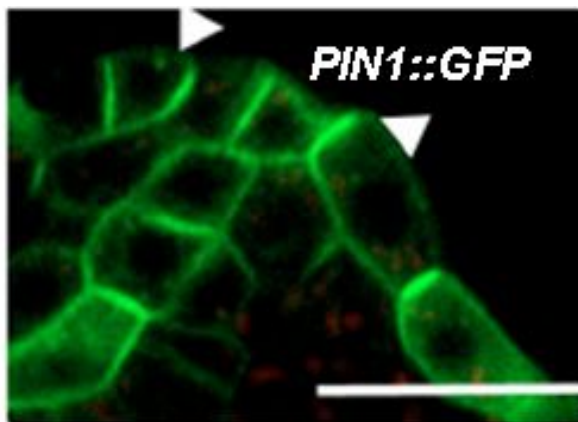
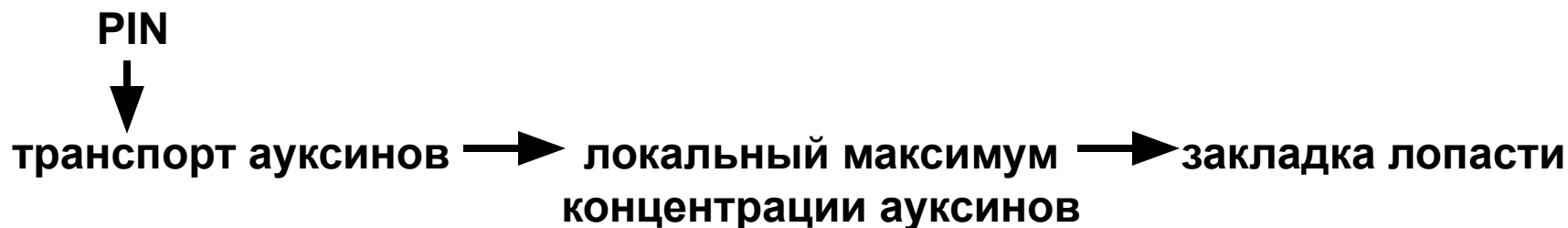


WT

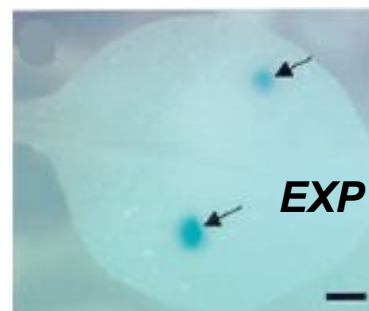
35S::LeT6



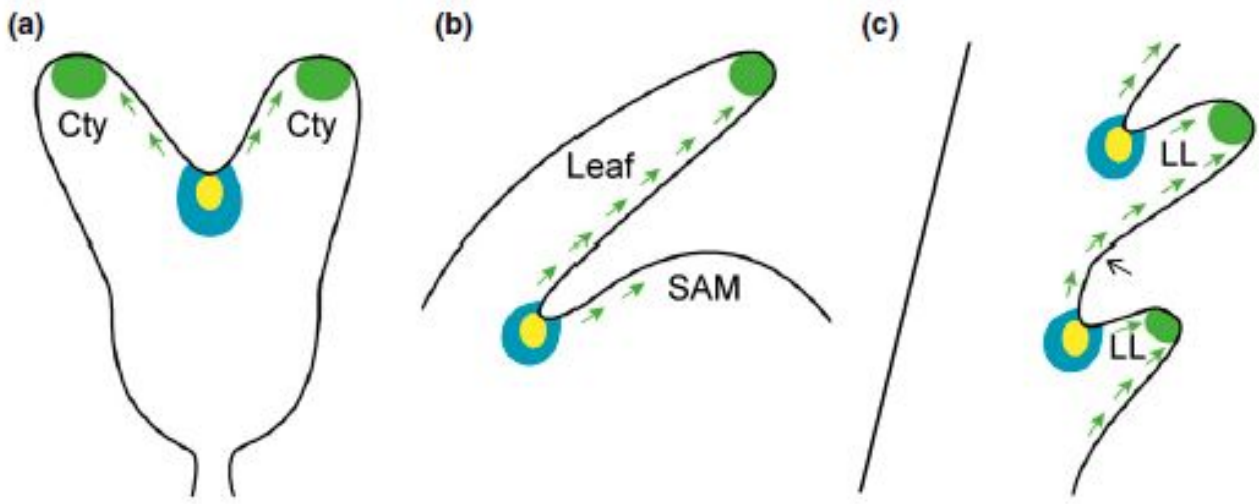
Для развития сложного листа необходимо возникновение локальных максимумов концентрации ауксинов в краевых доменах



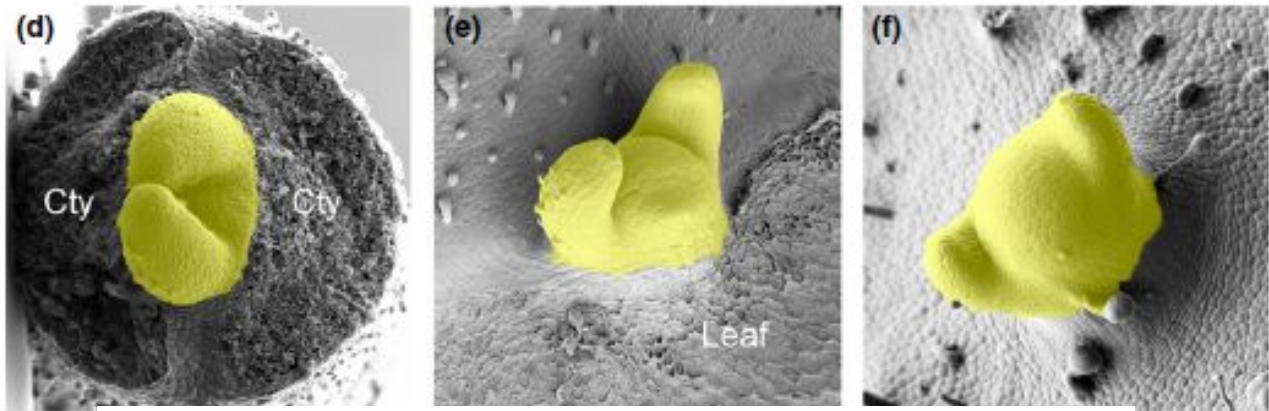
активация экспансинов,
рост клеток,
изменение направления деления



У растений со сложными листьями (например, томат) в зонах границы могут закладываться дополнительные побеговые меристемы (axillary meristems)

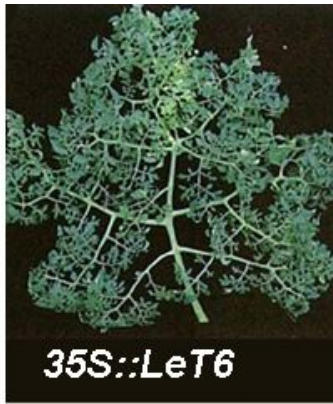


- меристема (KNOX, WUS, etc.)
- ауксиновый минимум
- ауксиновый максимум



Axillary meristems под сканирующим микроскопом

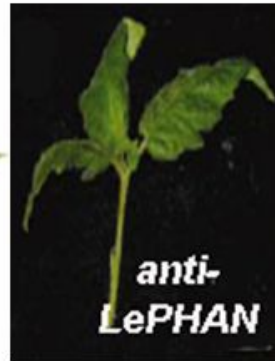
Определение формы сложного листа



↑ KNOX



↓ PHAN

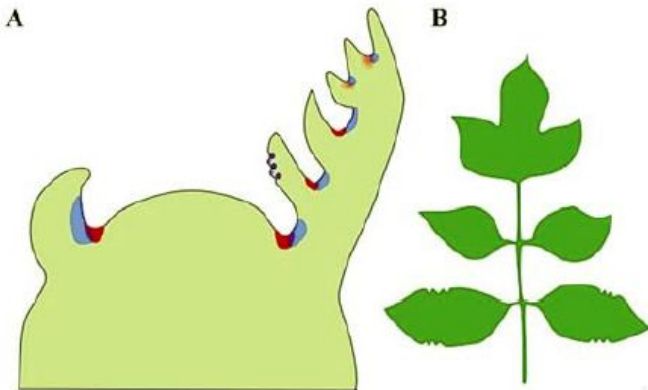


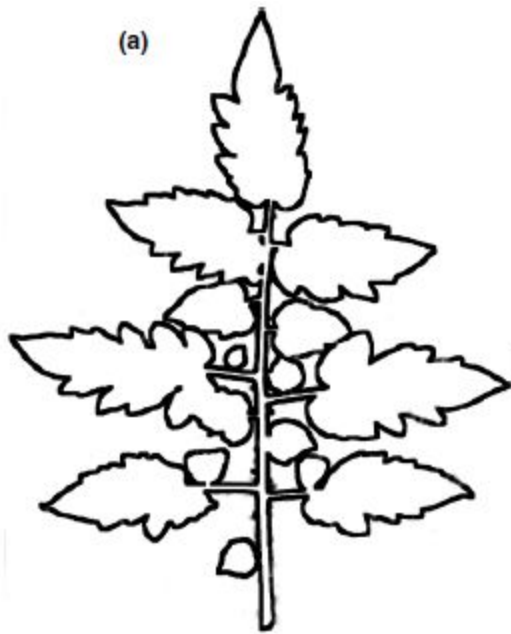
↓ CUC



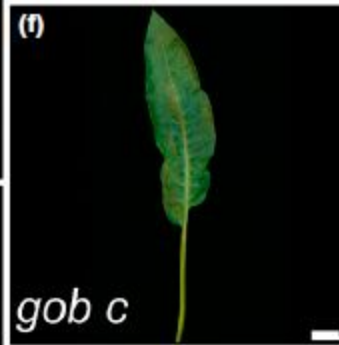
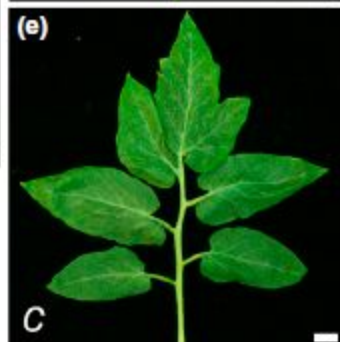
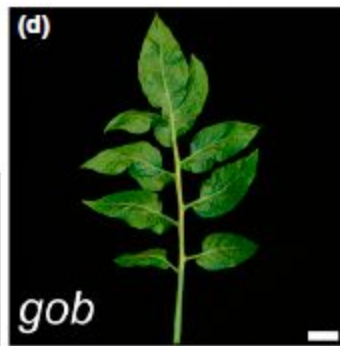
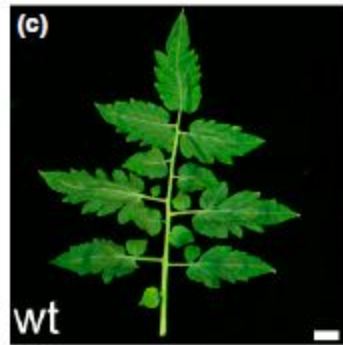
A

B





Мутации, приводящие к упрощению листа у томата



gob (*goblet*)
c (*potato leaf*)

Продукты генов *GOB*
и *C* – ортологи *CUC*