

## СИМПОЗИУМ “ГЕНЕТИКА РАЗВИТИЯ”

С 21 по 27 июня 2009 г. в Москве на базе Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН и Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова состоялся V съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС). Одним из научных его направлений была “Генетика развития”, представленная двумя симпозиумами: “Генетика развития растений” и “Генетика развития животных”.

Симпозиум “Генетика развития растений” был представлен семью докладами, посвященными разным аспектам генетики развития. Несмотря на небольшое число представленных работ, круг объектов весьма широк. Помимо основного модельного объекта генетики развития растений реззушки Таля (арабидопсис *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh.) в исследованиях использовались другие представители крестоцветных (редис, лепидиум, пастушья сумка), а также горох, гречиха и табак. Основой для большинства представленных работ служили генетические коллекции, полученные разными методами (с использованием химического и радиационного мутагенеза, инбридинга, отбора в гибридных популяциях, инсерционного мутагенеза).

Сообщение Л.А. Лутовой и др. (Санкт-Петербургский госуниверситет) было посвящено изучению форм редиса (*Raphanus sativus* var. *Radicula Pers.*) с изменениями процессов развития из коллекции инбредных линий, которая была заложена в работе Нарбут еще в 60-е гг. прошлого века (Нарбут, 1966). В настоящее время коллекция включает в себя 33 линии 35–40-го поколений инбридинга, полученные на основе сортов Вировский белый, Сакса и Ледяная сосулька (Бузовкина, Лутова, 2007). В коллекции имеются мутанты, характеризующиеся изменениями формы и окраски венчика, корнеплода, листа, карликовостью, нарушениями гравитропизма и др. признаками. Спонтанное опухолеобразование на корнеплодах в период цветения – наиболее интересная аномалия морфогенеза, которая отмечена у 11 линий редиса, имеющих разное происхождение. Опухоли у высших растений являются моделью для изучения системного контроля деления клеток, поэтому именно этот признак авторы работы исследовали наиболее детально.

Показано, что опухолевые линии обладают повышенным содержанием цитокининов в тканях по сравнению с родственными безопухолевыми, и при переходе к цветению в тканях опухолевых линий содержание свободного зеатина повышается в несколько раз, происходит резкое смещение баланса

цитокинин/ауксин в сторону цитокининов. Обнаружено также увеличение чувствительности клеток перицикла к цитокинину. По гомологии с генами *Arabidopsis thaliana CycD3-1, KNAT1, STM, WUS* и *ARR5* у редиса были выявлены гены *RsCycD3, RsKNAT, RsSTM, RsWUS* и *RsARR*, действующие на разных уровнях контроля пролиферации клеток. Анализ их транскрипции (методами ОТ-ПЦР и ПЦР-РВ) показал, что опухолеобразующие линии характеризуются существенным повышением уровня транскрипции всех исследованных генов. Это свидетельствует о том, что в основе опухолеобразования лежит нарушение координации между цитокининовым сигналингом и активностью меристемоспецифичных генов.

Совместные исследования сотрудников Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии РСХА и Санкт-Петербургского госуниверситета (доклад М.А. Осиповой и др.) показали, что сходные генетические системы используются растениями гороха при развитии меристемы клубеньков – новых органов бобовых растений, формирующихся при симбиозе с азотфиксирующими бактериями. Авторы клонировали фрагмент гена *PsWOX5* у гороха и сравнили экспрессию этого гена при развитии клубеньков у растений дикого типа и у мутантов с различными нарушениями клубенькообразования. Выявленная динамика экспрессии гена *PsWOX5* на различных этапах развития клубенька и отсутствие экспрессии этого гена у мутантов гороха с блоком развития примордия меристемы клубенька (*sym35, sym38*) свидетельствуют о вовлеченности этого гена в функционирование меристемы клубенька. Для выявления возможной взаимосвязи между *PsWOX5* и системой генов *CLAVATA* в меристеме клубенька была проанализирована экспрессия *PsWOX5* у суперклубенькообразующих мутантов гороха, характеризующихся нарушением системы авторегуляции клубенькообразования. Один из таких мутантов гороха, *sym29*, содержит мутацию в гене, кодирующем CLV1-подобный белок. Помимо мутанта *sym29*, были проанализированы также мутанты *sym28* и *Nod3*. Характер экспрессии гена *PsWOX5* у мутантов (*sym28, sym29* и *Nod3*) и растений гороха дикого типа (Frisson и Rondo) оказался различным, что свидетельствует об изменении регуляции гена *PsWOX5* при нарушении авторегуляции клубенькообразования, в которую, как предполагают, вовлечены компоненты системы белков *CLAVATA*.

Вопросы генетической регуляции активности меристем исследовались и в работе сотрудников МГУ им. М.В.Ломоносова (доклад Т.А. Ежовой и др.). На основании изучения мутантов *A. thaliana* выявлены два новых регулятора пролиферативной активности клеток меристем – гены *TAENIATA (TAE)* и *LEPIDIUM-LIKE (LEL)*. Показано, что ген *TAE* является одним из ключевых регуляторов активности меристемы листа, а ген *LEL* участвует в определении количества и положения органов цветка, являясь одним из позитивных регуляторов пролиферативной активности меристемы. У мутанта *tae* наблюдается высокий уровень экспрессии всех гомеобоксных генов (*WUS*, *STM*, *KNAT1*, 2, 6), поддерживающих меристематическую активность клеток листа (Ежова, Ву, 2008). Таким образом, ген *TAE*, подавляя транскрипцию этих генов, запускает дифференцировку клеток листовой меристемы. В результате отсутствия этого подавления у мутанта *tae* лист становится многолопастным; на нем развиваются дополнительные почки и иногда целые побеги, что напоминает явление вивипарии, встречающееся у представителей рода *Cardamine* и др. Кроме этого ген *TAE* так же подавляет транскрипцию *SYD* – позитивного регулятора гена *WUS*.

Анализ мутанта *lel* показал, что редукция у него лепестков и части тычинок коррелирует с уменьшением уровня транскрипции гена *WUS* и, как следствие, со снижением пролиферативной активности ствольных клеток в меристеме цветка. Редукция этих органов является одним из основных направлений эволюции цветка крестоцветных. Проведенные авторами исследования на природных формах *Capsella bursa-pastoris* и видах рода *Lepidium* показали, что у безлепестковых форм происходит также снижение уровня экспрессии генов, поддерживающих рост меристемы, по сравнению с формами с лепестками. Следовательно, редукция у крестоцветных органов в срединной зоне цветка (лепестков и тычинок) может быть связана со снижением пролиферативной активности клеток в меристеме цветка. Результаты этой работы еще раз показали, что *A. thaliana* является одним из наиболее удобных модельных объектов для выявления новых генов, контролирующих развитие. Тем не менее очевидно, что для полного понимания генетических основ разнообразия цветков и соцветий необходимы новые модельные объекты, представляющие основные эволюционные линии цветковых растений.

В связи с вышесказанным особый интерес представила работа М.Д. Логачевой и др., выполненная на гречихе в МГУ им. М.В. Ломоносова. Гречиха *Fagopyrum esculentum* входит в состав семейства Polygono-paseae – слабо изученную и обособленную группу растений из порядка Caryophyllales. Проведенный филогенетический анализ цветковых растений с привлечением определенной авторами последовательности хлоропластного генома гречихи показал родство порядка Caryophyllales с группой порядков,

называемых asterids (Logacheva et al., 2008a). Отсутствие объектов с хорошо разработанной частной генетикой в этом порядке в сочетании с его филогенетическим положением делает изучение генетического контроля развития гречихи особенно интересным. М.Д. Логачева рассказала об исследованиях мутантов гречихи из коллекции ВНИИ ЗБК, созданной А.Н. Фесенко и И.Н. Фесенко, в том числе мутантов по генам *TEPAL LIKE BRACT (TLB)*, *FAGOPYRUM APETALA (FAP)* и *FAGOPYRUM LEAFY (FLY)*. Показано, что мутация гена *TLB* вызывает превращение плёнчатых брактет (кроющих листьев, в пазухах которых развиваются цветки) в лепестковидные органы; у мутантов *fap* и *fly* происходит изменение типа органов околоцветника на плодолистики и листья соответственно (Фесенко и др., 2005; Logacheva et al., 2008b). Анализ мутантов с использованием как классических, так и молекулярных методов (включая анализ экспрессии) исследований показал существенные отличия в генетическом контроле развития цветка у гречихи по сравнению с другими растениями. В частности, было продемонстрировано отсутствие связи между функциями формирования плодолистиков и терминации развития цветка (остановки пролиферации ствольных клеток), которая была найдена у большинства модельных объектов. Проведен анализ полных последовательностей кДНК генов гречихи – ортологов ряда генов *A. thaliana*, отвечающих за флоральный морфогенез и пролиферацию меристемы: *LEAFY*, *APETALA1*, *APETALA2*, *APETALA3*, *PISTILLATA*, *AGAMOUS*, *WUSCHEL* и др. Полученные результаты позволяют рассматривать гречиху как перспективный объект для изучения эволюции генетического контроля развития цветка.

Сообщение Г.А. Романова и др. (совместное исследование сотрудников Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН и Института биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины) было посвящено рассмотрению молекулярных механизмов передачи цитокининовых сигналов, играющих важную роль в регуляции роста и развития растений. Для выявления чувствительных к цитокининам генов в работе, проведенной совместно с коллегами из Германии, был применен анализ тотального транскриптома, в том числе микрочипы Affymetrix ATH1. Установлено, что число генов первичного ответа невелико (70–80) и их доля не превышает 0.7–1% от числа экспрессируемых генов. Среди “ранних” генов оказалось много таких, которые кодируют регуляторные белки, в том числе факторы транскрипции. По всей видимости, эти регуляторные белки вызывают волну последующих крупных изменений транскрипции по каскадному принципу. Согласно полученным данным, такие вторичные изменения транскриптома могут затрагивать более тысячи разнообразных генов (Brenner et al., 2005).

В исследованиях линии *A. thaliana* с репортерным геном  $\beta$ -глюкуронидазы под контролем промотора цитокининчувствительного гена *ARR5* установлено, что эффекты цитокинина на экспрессию *ARR5::GUS* ограничены по амплитуде и во времени. Выявлены механизмы обратной связи, которые функционируют как на транскрипционном, так и на метаболическом уровне. Все они приводят к ограничению интенсивности и продолжительности ответной реакции на цитокинин генов первичности ответа. Фармакологический анализ показал возможное участие фосфолипазы D и неучастие оксида азота и полиаминов в трансдукции сигнала цитокининов в клетках растений. На основании имеющихся различий в особенностях экспрессии генов рецепторов цитокининов и данных, показавших существенную разницу сродства рецепторов к разным изоформам цитокининов, предложена схема дальнедистанционного действия этих гормонов в растениях, в соответствии с которой функциональная гетерогенность рецепторов цитокининов может иметь прямое отношение к их роли в межорганной коммуникации, а также координировать жизнедеятельность растения как функционально целостного организма (Романов, 2009).

В докладе Ю.И. Долгих и др. (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН) сообщалось об изучении роли гена *NtDCN1* в регуляции эмбриогенеза в культуре микроспор и органогенеза — в культуре листовых тканей табака (*Nicotiana tabacum* cv. Petit Havana SR1). Ранее этот ген, специфически транскрибирующийся в эмбрионных микроспорах, был идентифицирован в Венском университете при анализе генов, активирующихся в микроспорах табака при индукции эмбриоидогенеза. Белок, кодируемый исследуемым геном, имеет тесную гомологию с белками DCN1 нематоды и дрожжей, которые требуются для активации куллина в 26S-протеасомном пути деградации белков. Объектами представленной работы были гомозиготные трансгенные линии табака с инактивированным геном *NtDCN1* (инактивация достигалась путем введения антисмысловой копии *NtDCN1* под контролем промотора 35S вируса мозаики цветной капусты), а также линии, в которых активность исследуемого гена восстановлена за счет повторной трансформации конструкцией с промотором 35S в антисмысловой ориентации. Показано, что функция гена *NtDCN1* важна для образования и развития эмбриоидов из микроспор табака, а также в процессе зиготического эмбриогенеза и органогенеза. На основе данных по влиянию исследуемого гена на морфогенез выдвинуто предположение о его участии в контроле передачи ауксинового сигнала.

Л.А. Першина (ИЦиГ СО АН) рассказала о результатах исследований потомков ячменно-пшеничных гибридов (*H. marinum* subsp. *gussoneanum* × *T. aestivum*), их амфиплоидов и созданных на их основе аллоплазматических рекомбинантных, заме-

щенных и дополненных линий, которые отличались формой и окраской колоса, имели разную фертильность и другие изменения. Показано, что для отдаленных гибридов характерно аномальное двуродительское или отцовское наследование митохондриального генома, что приводит к эффектам ядерно-цитоплазматических взаимодействий и вызывает стерильность растений.

Интересные работы были представлены молодыми учеными на стендовой сессии и молодежном симпозиуме. И.Р. Акбердин (ИЦиГ СО АН) рассказал о математическом моделировании генных сетей метаболизма ауксина и результатах реконструкции с помощью клеточного автомата процессов, протекающих как на молекулярно-генетическом, так и на уровне клеточных взаимодействий. Ауксин является важнейшим регулятором морфогенеза растений, поэтому исследования, направленные на создание моделей генных сетей, которые способны учитывать особенности пространственного распределения и метаболизма этого гормона, дозозависимые эффекты его действия, имеют важное значение для изучения гормональных механизмов регуляции роста и развития.

Молодые ученые из Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова показали результаты изучения мутантов с изменениями развития побега. Е.В. Маркова исследовала и картировала у *A. thaliana* мутации, нарушающие рост и развитие цветоноса. А.А. Синюшин провел генетический и фенотипический анализ мутаций у гороха посевного (*Pisum sativum* L.: Fabaceae), приводящих к фасциации побега или преждевременной термации его развития. С использованием морфологических и молекулярных маркеров гены *FAS* и *SYM28* локализованы на генетической карте, выдвинуты гипотезы о их возможной гомологии известным генам *A. thaliana*. Анализ фенотипа ряда одиночных и двойных мутантов позволил исследовать генные взаимодействия и построить схему генетического контроля регуляции активности апикальной меристемы побега у гороха.

Обращает на себя внимание тот факт, что на Съезде были представлены работы по генетике развития растений лишь небольшой группы генетиков, главным образом, из Москвы и Санкт-Петербурга. По-видимому, это связано не только с тем, что исследования в этой области требуют наличия достаточно хорошо технически оснащенных лабораторий, но и с отсутствием специальных программ поддержки исследований по биологии развития растений, в том числе и генетики развития.

В целом итоги Симпозиума убедили в том, что новизну и приоритетность исследований в генетике развития растений можно поддерживать, используя уникальные генетические коллекции, которые создавались в России на протяжении десятков лет. Высокий технический уровень работ — важную составляющую этой непростой об-

ласти генетики – удастся поддерживать благодаря сотрудничеству с хорошо оснащенными зарубежными лабораториями.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бузовкина И.С., Лутова Л.А. Генетическая коллекция инбредных линий редиса: история и перспективы // Генетика. 2007. Т. 43. № 10. С. 1411–1423.
- Ежова Т.А., Ву Х.Ч. Генетическая и эпигенетическая регуляция морфогенеза листа // Вестн. ТверьГУ. Сер. Биология и экология. 2008. Вып. 9. № 25 (85). С. 66–76.
- Нарбут С.И. Генетическая коллекция инбредных линий редиса // Генетика. 1966. Т. 5. № 5. С. 89–100.
- Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку // Физиология растений. 2009. Т. 56. № 2. С. 295–319.
- Фесенко А.Н., Фесенко И.Н., Логачева М.Д., Пенин А.А. Участие гена *TEPAL-LIKE BRACT (TLB)* в определении границы между брактями и околоцветником у *Fagopyrum esculentum* Moench. // Генетика. 2005. Т. 41. № 12. С. 1644–1649.
- Brenner W., Romanov G., Burkle L., Schmulling T. Immediate-early and delayed cytokinin response genes of *Arabidopsis thaliana* identified by genome-wide expression profiling reveal novel cytokinin-sensitive processes and suggest cytokinin action through transcriptional cascades // Plant J. 2005. V. 44. P. 314–333.
- Logacheva M.D., Samigullin T.H., Dhingra A., Penin A.A. Comparative chloroplast genomics and phylogenetics of *Fagopyrum esculentum* ssp. *ancestrale* – A wild ancestor of cultivated buckwheat // BMC Plant Biol. 2008a. V. 8. № 59. P.1–15.
- Logacheva M.D., Fesenko I.N., Fesenko A.N., Penin A.A. Genetic and morphological analysis of floral homeotic mutants *tepal-like bract* and *fagopyrum apetal* of *Fagopyrum esculentum* // Botany (Can. J. Bot.). 2008b. V. 86. № 4. P. 367–375.

Т. А. Ежова

E-mail: ezhova2001@mail.ru