

ГІБЕРЕЛІН-СИГНАЛЬНІ ШЛЯХИ РОСЛИН



Молекулярні механізми росту та розвитку рослин детально вивчаються в останнє десятиріччя. Стає очевидною роль рослиноспецифічної родини GRAS-протеїнів в цих процесах. В роботі підкреслено значення DELLA-протеїнів та показано модель гіберелін-сигнальних шляхів рослин, яка розпочинається зі зв'язування біологічно активної гіберелової кислоти з рецептором та DELLA-протеїном. Такий комплекс убіквітинується, завдяки чому стає мішенню для протеасомної деградації. При руйнуванні DELLA-протеїнів знімається репресія росту та спостерігається гіберелова відповідь, яка проявляється в індукції ростових процесів. Обговорюються молекулярні механізми функціонування DELLA-протеїнів як транскрипційних факторів.

Вступ

Поліпшення рослин за рахунок нових господарсько важливих генів сприяє підвищенню потенціалу продуктивності. Введення в геном пшениці генів короткостебловості привело до зменшення висоти рослин і збільшення врожаю зерна в два-три рази, що стало основою так званої «зеленої революції». Важливість використання генів короткостебловості обумовлює необхідність детального розуміння процесів, що супроводжують зміну габітусу рослин внаслідок введення генів короткостебловості. Останнім часом детально вивчаються молекулярні механізми росту та розвитку рослин.

Нечутливість до дії гіберелової кислоти (ГК) у пшениці викликана мутаціями, що призводять до виникнення стоп-кодонів в генах *Rht-B1* та *Rht-D1* (алелі *Rht-B1b* і *Rht-D1b*) [1], та супроводжується трансляцією мутантних білків DELLA, які діють як стійкі до дії ГК репресори росту рослин [2–4].

Відкриття гіберелінових рецепторів у організмів, що стоять на різних сходинках еволюційного розвитку, стимулювало потік робіт, спрямованих на вивчення у рослин шляхів передачі гіберелового сигналу.

Ця робота присвячена аналізу сучасних досліджень гіберелін-сигнальних шляхів рослин та молекулярних механізмів дії DELLA-протеїнів як репресорів росту, тому що саме вони є активними компонентами гіберелін-сигнальної системи та працюють як рецептори гіберелін-залежного росту рослин [2, 5–7].

Гібереліни

Гібереліни – широко відомі фітогормони, які впливають на велику кількість процесів, що відбуваються у рослин: ріст, розвиток, адаптація до умов середовища, включаючи проростання зерен, ріст паростків, розмір та форма листя, ріст стебла та коренів, індукція появи квітів та їхній розвиток, опилення, розвиток зерен та розміри фруктів [8–10]. У рослин біологічно активні гіберелові кислоти (складаються з 19 атомів вуглецю – C₁₉) синтезуються на кінцевих етапах синтезу гіберелінів з біологічно неактивних ГК (C₂₀). Ферментом, який каталізує стадію перетворення неактивних ГК у активні, є гіберелін-3β-гідроксилаза [11]. Більшість вищих рослин використовують ГК₁ як ендогенну біологічно активну гіберелову кислоту, яка бере активну участь в процесах роз-

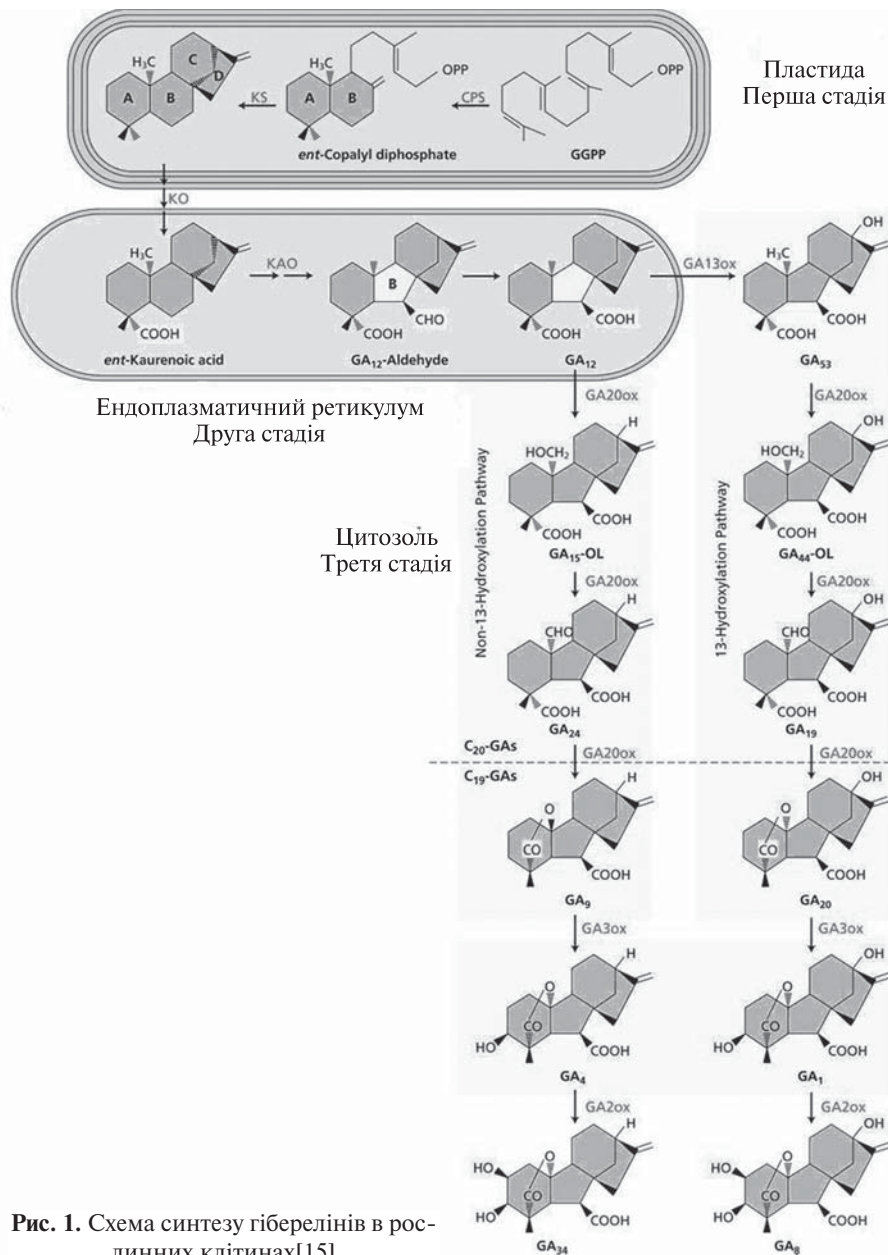


Рис. 1. Схема синтезу гіберелінів в рослинних клітинах[15]

витку рослин [11]. Ще одним важливим для синтезу ГК ферментом є гіберелін-20-оксидаза (*GA20ox*), яка каталізує три сходинки біосинтезу гіберелінів. Біологічно активні гібереліни присутні у рослин на всіх етапах розвитку, проте їхня кількість залежить від різних механізмів регуляції та не є однаковою на різних стадіях морфогенезу. Існують дані, що у *Eustoma grandiflorum* Shinn. початок експресії генів, які кодують біосинтез гіберелінів, відбувається піс-

ля періоду яровизації [12]. Включення попередників гіберелінів детектовано під час та після дії низької температури [13, 14]. У дводольних, наприклад арабідопсису, проростання зерен стимулюється дією світлової хвилі відповідної довжини, яка індукуює синтез біологічно активних ГК, що синтезуються *de novo* при проростанні зерна [15]. Гібереліни у свою чергу індукують синтез ензимів, необхідних для переварювання ендосперму, який в проти-

лежному випадку буде слугувати механічним бар'єром при проростанні коренів. Критично важливою для синтезу гіберелінів є довжина світлової хвилі, що підтверджує залучення у цей процес специфічних фоторецепторів. Червоне світло діє як каталізатор сходинки 3β -гідроксилювання в гіберелін-сигнальному шляху, яка переводить неактивні гіберелінові кислоти в біологічно активні [15]. Гомеостаз біологічно активних ГК підтримується в організмі на транскрипційному та/чи посттранскрипційному рівнях [16]. Необхідно зазначити, що рівень мРНК генів, які кодують *GA20ox* та гіберелін- 3β -гідроксилазу (важливі ферменти для синтезу біологічно активних ГК), регулюється зменшенням рівня ГК (down-регуляція) [17]. Проте, за даними Hedden et al. [16], світло виступає як важливий регулятор транскрипційного рівня *GA20ox*. У той же час експресія генів, що кодують гіберелін-2-оксидазу та ферменти для деактивації біологічно активних $GK_{4/1}$, підсилюється при збільшенні рівня ГК (up-регуляція) [18]. Синтез гіберелінів відбувається у три стадії в різних компартментах клітин. У фотосинтезуючих рослин біосинтез гіберелінів розпочинається в пластидах, продовжується в ендоплазматичному ретикулумі та завершується в цитозолі [15].

Існують ультракарликові рослини гороху (*na na*-мутація), які мають дефектні гени P450 монооксигеназного типу. Ці рослини заввишки близько 1 см та не можуть синтезувати гіберелін жодного виду, отож біосинтетичний шлях блокується ще до синтезу GK_{12} [11].

GRAS-гени

Рослиноспецифічна родина GRAS-генів, що транскрибуються у GRAS-протеїни, отримала свою назву на честь трьох перших ідентифікованих членів GAI (gibberellin insensitive), RGA (repressor of *ga1-3*) та SCARECROW. Родина GRAS грає важливу роль у розвитку коренів та паростків рослин, трансдукції сигналів фітохромів та відповіді на гіберелінову кислоту (ГК-сигналізацію) (рис. 1), а за останніми даними також приймає участь у стійкості рослин до хвороб, біотичних та абіотичних стресів [19, 20].

GRAS-гени ідентифіковані у 30 видів рослин як однодольних, так і дводольних, з по-

над 20 родів [21], зокрема 33 з 60 GRAS-генів ідентифіковані у *Arabidopsis thaliana* та риси [21–24].

Існування GRAS-подібних генів у бріюфітів підтверджує, що GRAS – стародавня родина транскрипційних факторів, яка виникла до появи наземних рослин понад 400 млн років тому [21].

Білок SCARECROW (SCR) (рис. 2) було ідентифіковано близько 14 років тому як першого члена рослиноспецифічного GRAS-домену родини транскрипційних факторів [25]. Цей білок у арабідопису відповідає за асиметричність клітинних поділів, які необхідні для формування тканин кореня та паростка в ґрунті [26].

На сьогодні відомо, що GRAS-родина складається з восьми підродин:

1) HAM (Hairy meristem), необхідні для підтримання у робочому стані апикальних меристем паростка [27];

2) LISCL – транскрипційні регулятори мікрорепродукції [28];

3) PAT1 – цитоплазматичні протеїни арабідопису беруть участь у трансдукції сигналу фітохромів [29], у рисі ядерно локалізовані протеїни є транскрипційними регуляторами деяких видів захисних реакцій [21];

4) LS (lateral suppressor) відповідає за ініціацію аксілярних меристем [30];

5) DELLA беруть участь у ГК-відповіді;

6) SCR (SCARECROW) відповідає за асиметричні поділи клітин, які дають рости кортексу та ендодермі [25, 31];

7) SCL – функції не відомі;

8) SHR (Short-root) відповідає за поділ та специфікацію клітин кортексу та ендодерми [26].

GRAS-протеїни локалізовані в ядрі, окрім PAT1 [29], типово складаються з 400–700 амінокислот та вміщують у карбоксил-(C-) кінцівках специфічні консервативні послідовності. Достовірної схожості аміно-(N-)термінальних послідовностей не знайдено.

DELLA-протеїни, будова та функції

DELLA-протеїни названо на честь характерного амінокислотного повтору, що входить у їхній склад за однолітерною номенклатурою. Будова протеїнів підродини DELLA представ-

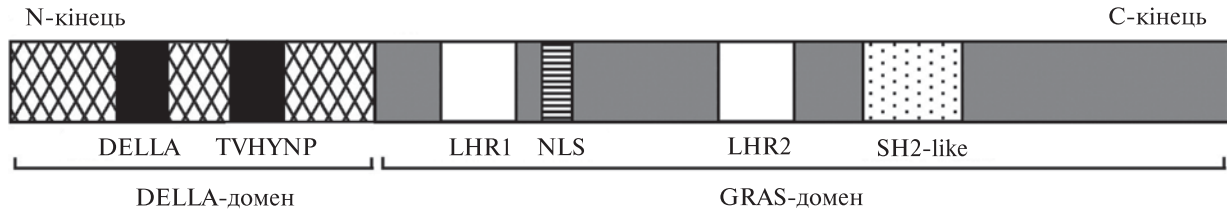


Рис. 2. Особливості структури DELLA-протеїнів за даними Olszewski et al. [35] з модифікацією згідно з [1]

лена на рис. 2. DELLA-протеїни складаються з функціонального GRAS-домену та регуляторного DELLA-домену. GRAS-домен – функціональний домен, характерний для всіх протеїнів GRAS-родини і залучений до зв'язування протеїнів з F-боксу [32]. В середині GRAS-домену розрізняють SH2-подібний домен, NLS (nuclear localized signal) мотив та два LHR повтори (leucine heptad repeat). SH2-подібний домен, характерний лише для GRAS-протеїнів рослин, функціонує як STAT-протеїни (signal transducers and activators of transcription) тварин. Вважається, що він слугує для регулювання транскрипції [1], в середині цього домену є консервативна амінокислотна послідовність, яка асистує у зв'язуванні фосфорильованого тирозину в інваріантний аргінін. SH2-домен взаємодіє зі специфічними фосфотирозин-мотивами протеїнів, які є важливими посередниками сигнальних механізмів у клітинах багатоклітинних організмів [33]. LHR1 та LHR2 – лейцин-семічленні повтори, необхідні для димеризації та взаємодії протеїнів, вони також присутні у деяких транскрипційних факторів [34]. NLS-мотив характерний для транскрипційних регуляторів. За даними Tian et al. [21], NLS-мотив є одним з двох частин, які входять у склад LHR1 повтору. С-термінальна ділянка містить домени VHIID, PFYRE та SAW, що характерні для всіх протеїнів GRAS-родини. Вони беруть участь в супресії функцій DELLA-протеїнів, направлених на репресію дії ГК [21]. DELLA та TVHYNP-домени, характерні для DELLA-протеїнів, є необхідними для їхньої деградації у відповідь на зв'язування з ГК і знаходяться у менш консервативному N-кінці протеїну.

Вид *Arabidopsis thaliana* має п'ять DELLA-протеїнів – GAI, RGA, RGA-LIKE1 (RGL1), RGL2 та RGL3, які функціонують як репресори гіберелін-чутливого росту рослин. Високо-

гомологічні DELLA-протеїнові репресори GAI, RGA та, мабуть, RGA-LIKE1 (RGL1) діють як репресори росту у довжину [3, 36, 37]; RGA, RGL1 та RGL2 спільно обмежують розвиток квіток, репресуючи розвиток пелюстків та тичинок [38, 39]; RGL2 діє як ключовий негативний регулятор проростання зерен [40]. Функціональна роль RGL3 поки що не визначена [41].

Мутації DELLA-доменів описані для арабідопсису (*Arabidopsis thaliana*) – GAI, пшениці (*Triticum aestivum*) – *Rht1*, кукурудзи (*Zea mays*) – *dwarf8* (*d8*), ячменю (*Hordeum vulgare*) – *Slender1* (*Sln1*) та рису (*Oryza sativa*) – *Slr1*. Ці мутації гіпотетично можуть бути молекулярною причиною для ГК-нечутливості відповідних алелів [1, 7]. Так, делеції або специфічні місенс-мутації в середині DELLA-домену надають мутантним протеїнам нечутливість до ГК-індукованої деградації, що веде до ГК-нечутливого карликового фенотипу [36, 42, 43].

Довгий час мало місце припущення, що регулятори GRAS-домену функціонують як транскрипційні фактори. Здебільшого GRAS-протеїни локалізовані у ядрі та за будовою структурного домену схожі зі специфічними для тварин трансдукторів сигналу та активаторів транскрипції (STAT), які зв'язують ДНК [1, 33].

У 2006 р. зроблено спроби ідентифікувати DELLA-залежні транскриптоми, що контролюють проростання зерен із використанням аналізу ДНК-мікропанелей [20].

Було ідентифіковано 541 ген, експресія яких підсилюється гібереліном («ГК-up»), та 571 ген, експресія яких послаблюється гібереліном («ГК-down») [20]. Серед цих «ГК-up» генів, що репресують проростання зерен, 360 в нормі негативно регулюються DELLA-протеїнами – «DELLA-down», а 181 ген є DELLA-незалежним. З ідентифікованих «ГК-down» генів 320 виявилися DELLA-незалеж-

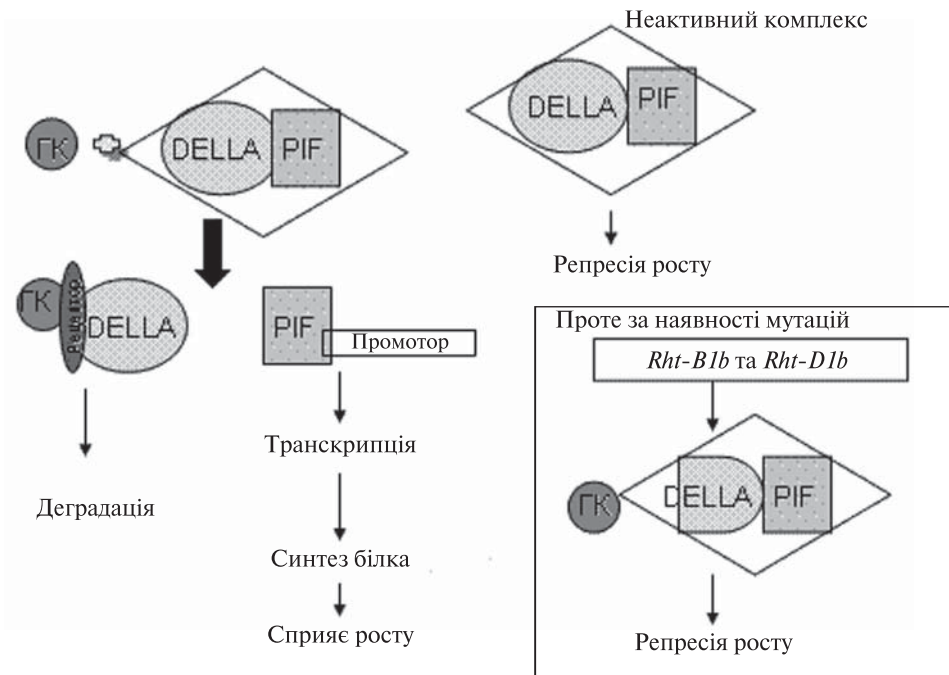


Рис. 3. Модель взаємодії DELLA-протеїнів з PIFs

ними, а 251 ген, що репресують проростання зерен – позитивно регулюються DELLA-протеїнами. Серед 360 «DELLA-down» генів 162 – це гени ензимів, які кодують гідролази – 70 генів, трансферази – 50 генів, оксидоредуктази – 23 гени, що відповідають за біосинтез та метаболізм карбогідратів, білків, нуклеотидів/нуклеїнових кислот та ліпідів. Це свідчить про важливість мобілізації харчових ресурсів при проростанні зерна. Друга за величиною група «DELLA-down» генів (загалом їх 96) вміщує гени, які кодують протеїни, що здатні зв'язуватися з нуклеїновими кислотами, нуклеотидами, іонами та протеїнами. Інші гени кодують широковідомі фактори, що асоціюються з послабленням тканевого оточення ембріону для сприяння його росту та випинанню коренів [44–46]. Вважається, що депресія DELLA-функцій гібереліном є ключовою для експресії цих важливих факторів, які модифікують клітинну стінку. Цікаво, що до «DELLA-down» генів також належать три гени α -тубуліну (TUA2, TUA4, TUA6) та чотири гени β -тубуліну (TUB1, TUB5, TUB6, TUB7). Вважається, що DELLA слугує посередником в реорієнтації цитоскелету – важливого процесі, який відбувається

після модифікації клітинної стінки при проростанні зерна [47].

Серед 251 «DELLA-up» генів 85 кодують ензими, 79 – протеїни. Щодо інших генів невідомо, чи виконують вони молекулярні функції. Серед «DELLA-up» ензимів виявлено 30 генів оксидоредуктаз та 20 генів трансфераз. Цікаво, що велика кількість генів, пов'язаних з фітогормональною відповіддю та відповіддю/захистом від стресу, були ідентифіковані як «DELLA-up» гени. Це гени, що відповідають на висушування (десикацію), зв'язують окислене залізо, пов'язані з відповіддю на ауксин та ін. [48–50].

Іншою важливою функцією DELLA-підродина GRAS-протеїнів, яка була визначена в останніх дослідженнях, є взаємодія рецепторів з фітохром-взаємодіючими факторами (PIFs – phytochrome interacting factors) (рис. 3) [51, 52].

У відсутності ГК DELLA-протеїни вступають у взаємодію із світлочутливими транскрипційними факторами PIF3 та PIF4 та цим попереджають взаємодію цих факторів з їх цільовими промоторами, зв'язуючи ці фактори у неактивний комплекс. ГК-індукована деградація DELLA звільняє PIF3 та PIF4, даючи їм

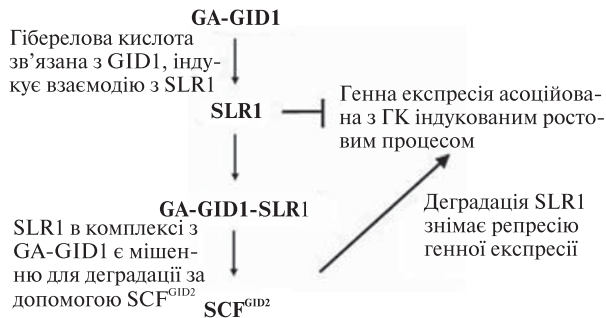


Рис. 4. Модель ГК сприйняття та трансдукції сигналу в рисі [57]

можливість регулювати генну активність, та сприяє росту рослини [51, 52]. У випадку, коли в генотипі, наприклад пшениці, присутні гени *Rht-B1b* та *Rht-D1b*, що експресують N-термінально скорочені DELLA-протеїни [1], в яких немає сайту зв'язування з гібереліновими рецепторами, DELLA-протеїн так і залишається у складі неактивного комплексу з PIF3 або PIF4, репресуючи ріст рослини.

DELLA-протеїни приймають участь в гіберелін-опосередкованій сигналізації, зв'язуючись з гібереліною кислотою.

Гіберелінові рецептори

Існувало дві гіпотези щодо впливу ГК на генну транскрипцію [53]: прямо чи опосередковано через ГК-зв'язуючі протеїни (GBP – GA-binding protein).

Виділено делькілька критеріїв, яким мав відповідати ГК-рецептор [53]: оборотно зв'язувати ГК; насичуватися ГК та бути високоспорідненими з біологічно активними ГК; мати лігандову специфічність до біологічно активних ГК.

Вивчення гіберелової відповіді на модельному об'єкті *Arabidopsis thaliana* є досить складним через високий рівень функціональної надмірності компонентів ГК сигнальної системи. Навпаки, деякі ГК сигнальні компоненти риси (*Oriza sativa*) кодується простими генами, що робить рис зручною системою для вивчення цих шляхів [54].

У 2005 р. остаточно ідентифіковано розчинний ГК-рецептор риси – GID1 (GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF 1) [54]. Генетичний аналіз *gid1*-мутантів не підтвердив існування інших ГК-рецепторів риси [54]. GID1 локалізується головним чином в ядрі, також його можна виявити в цитоплазмі. GID1 має високу спорід-

неність до біологічно активних ГК, наприклад GK₃, GK₄ і GK₁, у той же час він має низьку спорідненість з неактивними ГК. При низьких концентраціях ГК SLR1 (Slender rice 1) репресує гіберелову відповідь. При високих концентраціях ГК сприймається ГК-рецептором GID1 (рис. 4) та утворює нестабільний подвійний комплекс ГК–GID1, який легко дисоціює [53]. При зв'язуванні цього подвійного комплексу з SLR1 в сайті DELLA та TVHYNP доменів виникає стабільний комплекс. Таким чином SLR1 стабілізує взаємодію між GID1 та ГК [53]. Потім запускається деградація DELLA-протеїнів, опосередкована протеїном GID2 з F-боксу [54–56]. Пряма роль GID1 полягає в направленні DELLA протеїну риси SLR1 на деградацію. Більш того, ГК-опосередкована деградація SLR1 скасовується у *gid1*-мутантів [54].

У *Arabidopsis* знайдено три типи рецепторів GID1A, GID1B, GID1C – гомологів до ГК-рецептора GID1 риси [10, 58].

Віліг та ін. [59] показали, що прості мутації кожного з трьох GID1-генів арабідопсису не виявляють очевидних дефектів у ГК-контрольованій ростовій відповіді рослин, такій як проростання зерен, ГК-індукованому видовженні гіпокотилу, рості у довжину або часі колосіння, проте подвійні та потрійні мутанти порушують ці процеси частково або повністю. Отож три GID1-протеїни арабідопсису функціонують як ГК рецептори, а потрійні *gid1*-мутанти є нечутливими до ГК. Цікавим є те, що ні прості *gid1*-мутанти, ні подвійні не призводять до збільшення рівня DELLA-протеїнів, що очікується для мутантів з порушеним сприйняттям ГК. Результати подальших досліджень показали, що DELLA-домен слугує доменом-приймачем для активації GID1A рецептора, і втрата взаємодії між ГК-рецепторами на молекулярному рівні призводить до ГК-нечутливого росту за участі відповідних «карликових алелів» пшениці, кукурудзи та ячменю. Ця гіпотеза кінцево доведена у випадку ячменю *Sln1D* [42]. Щодо пшеничних алелів, базуючись на природі *Rht-B1b* мутацій можна припустити, що ці алелі експресують N-термінально скорочений GAI ортолог (один з DELLA-протеїнів арабідопсису) [1], в якому немає сайту зв'язування з гібереліновими рецепторами, отже рослини є нечутливими до ГК.

Гіберелова кислота допомагає рослинам арабідопсису, рису, ячменю подолати DELLA обмеження росту та розвитку за допомогою скорочення або видалення цих протеїнів шляхом протеасомно-опосередкованої деградації [39, 42, 43, 60–62]. Також ГК індукує фосфорилляцію тирозину (Tyr) DELLA-протеїнів або деяких інших ГК-сигнальних факторів – попередників запуску деградації DELLA-протеїнів в клітинах тютюну [41], що включається завдяки механізму убіквітинування.

Механізм убіквітинації

На шляху гіберелінової сигналізації рослинни DELLA-протеїни проходять убіквітинацію – складний процес, в якому убіквітин відіграє ключову роль. Убіквітин – це білок, який складається з 76 амінокислот, ковалентно зв'язаних з білками у такому порядку, щоб виділити ці білки для протеолітичної переробки або знищення (розглянуто Smalle et al. [63]).

Убіквітинація здійснюється завдяки взаємодії SCF-комплексу та DELLA-протеїнів, як показано для арабідопсису і рису [55]. SCF-комплекс складається з чотирьох субодиниць – Skp1, cullin, RING-finger протеїн та F-box протеїну (рис. 5) [64]. Саме F-box протеїн зв'язується з конкретним цільовим білком (DELLA) через C-кінцевий домен білок-білкової взаємодії. F-box протеїн (SLY1) зв'язується з білком Skp1 (який відноситься до ASK або Arabidopsis Skp1 у арабідопсису) через консервативний N-кінець F-box домену. Skp1 прив'язує F-box до N-кінця «cullin», який зв'язується з RING-finger білком (RBX1), а той в свою чергу зв'язується з E2 сполучним ферментом – джерелом убіквітину. В цей же час відбувається зв'язування убіквітину (Ub) з E1 (або убіквітин-активаційним ферментом), потім комплекс передається на E2 та зв'язується з SCF E3, який каталізує передачу убіквітину від E2 до DELLA-субстрату. Формування поліубіквітинових ланцюгів з чотирьох або більше молекул робить ці ланцюги мішенню для 26S-протеасомної деградації.

Модель гіберелін-сигнального шляху рослин

ГК-сигнальний шлях дуже консервативний у рослинному світі, мабуть через структурну і функціональну консервативність DELLA-протеїнів, що показано на пшениці, кукурудзі та

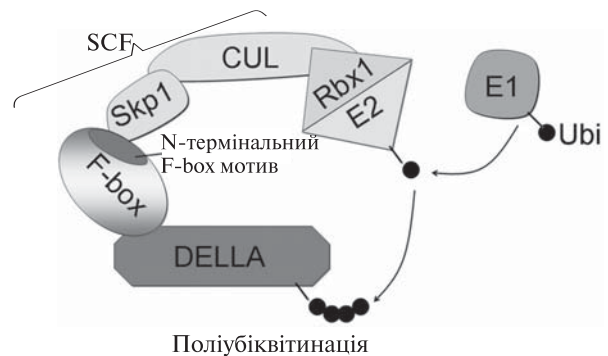


Рис. 5. Структура лігасного комплексу убіквітин-SCF E3 на базі SCF^{SKP1} кристалічної структури [64]

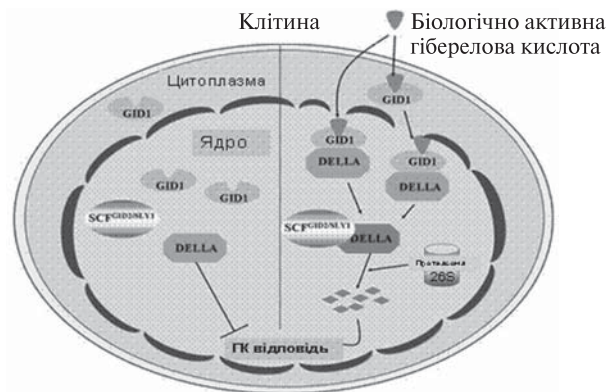


Рис. 6. Моделі ГК сигнального шляху в *Arabidopsis* [68]

ячменю [1, 7, 42]. Цю інформацію також підтверджують дані, засновані на амінокислотній гомології DELLA-білків, які були виявлені в соєвих бобах, томатах, винограді і рослинах роду *Argyroxiphium* [65–67]. Сучасна модель ГК-сигнальних шляхів на основі останніх даних щодо рису й арабідопсису показана на рис. 6.

При наявності біологічно активна ГК зв'язується з рецептором GID1 (права сторона рис. 6), та вони разом транспортуються до ядра, якщо зв'язування відбулося в цитоплазмі. У ядрі комплекс ГК–GID1 зв'язується з DELLA-протеїном у потрійний комплекс, в якому відбувається зміна конформації молекули, наприклад, за допомогою фосфорилування, проте це не обов'язково. Потім F-box DELLA-протеїну зв'язується з GID2 та SLY1 протеїнами та E3-убіквітин-лігасним-Skp-Cullin-F-Vox. Такий великий комплекс пізнається 26S протеасомою та руйнується. При відсутності ГК (ліва сторона рис. 6) DELLA-протеїн негативно ре-

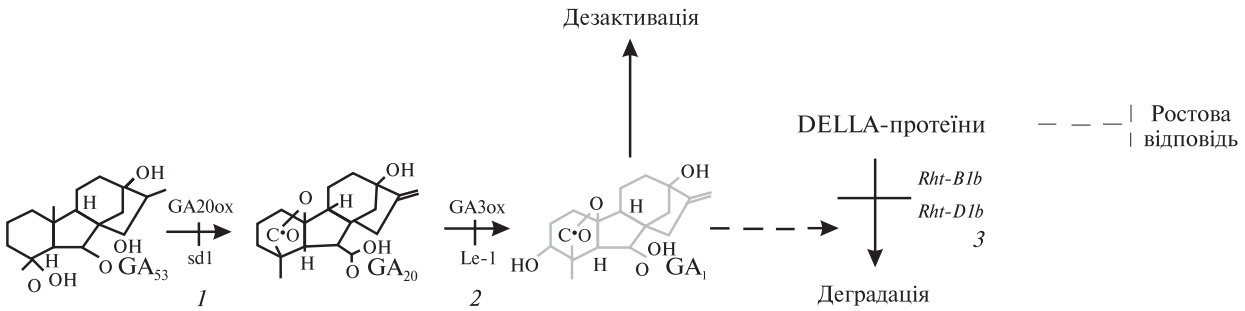


Рис. 7. Спрощений вигляд ГК сигнального шляху рису (1), гороху (2) та пшениці (3) (цитується за Hedden [69])

гулює ГК відповідь: SCF^{SLY1} E3-убіквітин лігаза не може взаємодіяти з білками DELLA. Таким чином, DELLA-білки зберігаються в клітинах і подавляють ГК відповіді, такі як проростання насіння, видовження стебла, цвітіння та ін.

Огляд ГК сигнального шляху, включаючи біосинтез і передачу сигналу (рис. 7), вказує на перешкоди, присутні у карликових мутантів рису, гороху та пшениці.

У рису (рис. 7, 1) ген *sd1* кодує ензим дико-го типу – ГК-20-оксидазу (*OsGA20ox2*), яка каталізує три сходинки біосинтетичного шляху та має найбільший вплив з чотирьох генів ГК-20-оксидаз на ріст стебла. Рослини рису, у яких немає цього ферменту, характеризуються зменшеним ростом.

У більшості комерційних карликових сортів гороху присутня *le*-мутація, яка зменшує висоту стебла, не зачіпаючи репродуктивного розвитку. Ця мутація була використана Менделем у своїх класичних дослідженнях за природою успадкування. Ген *le* кодує ГК-біосинтез ферментів, GA3ox (рис. 7, 2), який в *le-1* алелі містить одну амінокислотну заміну, що знижує активність ферменту [70, 71], і відбувається лише 5% від перетворення ГК₂₀ в ГК₁ у нормальних рослин [11]. Тому через нестачу біологічно активних ГК рослини мають карликовий фенотип.

Існують різні варіації генів *le* у гороху, вони різняться ефективністю 3β-гідроксиляції, яка приводить до різного рівня ГК₁ в тканинах, що корелює з висотою рослин [11].

Як вже зазначалося, у пшениці алелі *Rht-B1b* та *Rht-D1b* мають точкові мутації, що створюють стоп-кодон в DELLA-домені. Цей домен, як відомо, є необхідним для ГК-залежної деградації. В такому випадку транслюють-

ся протеїни з усіченим N-кінцем, стійкі до ГК-індукованої деградації (рис. 7, 3). Проте на сьогодні ще невідомо, яку мутацію вміщують алелі *Rht-B1c* та *Rht-D1c* і яким чином ця мутація призводить до ще більшої карликовості [69].

Для швидкої трансдукції сигналів рослини як фотосинтезуючі організми часто контролюють генну експресію шляхом білкової деструкції. Такий контроль дозволяє рослинам швидше реагувати на зміни умов навколишнього середовища, ніж зміни у транскрипції [68], та підтверджується гомологією амінокислот убіквітин-протеасомного шляху як у однодольних рису та ячменю, так і у дводольних *Arabidopsis*.

* *
*

Нещодавно опублікований матеріал свідчить про те, що DELLA-протеїни з родини GRAS-протеїнів є регуляторами гіберелін-залежного росту рослин.

Пояснено модель ГК-сигнального шляху у рослин, який розпочинається зі зв'язування біологічно активної гіберелової кислоти з рецептором та DELLA-протеїном. Такий комплекс убіквітинується, завдяки чому стає мішенню для протеасомної деградації.

При руйнуванні DELLA-протеїнів знімається репресія росту та спостерігається гіберелова відповідь, яка проявляється в індукції ростових процесів.

В той час, коли рівень біологічно активної ГК зменшується, наприклад, через стресові умови, призупиняється деградація DELLA-протеїнів, які репресують ріст рослин.

DELLA-протеїни у випадку наявності мутантних алелів генів короткостебловості неза-

лежно від рівня біологічно активних ГК не зв'язуються з ними, що запобігає руйнуванню DELLA-протеїнів та репресує ріст рослин.

Хоча відкриття рецепторів ГК дало можливість краще зрозуміти ГК-сигнальний шлях, невирішених питань залишається ще багато. Серед них такі, що стосуються удосконалення знань про окремі деталі ГК-сигнального шляху рослин, зокрема, чи є рослини з іншими ГК-рецепторами, наприклад, з мембранопов'язаними; як ГК входить в клітину, щоб зв'язати цитоплазматично або ядерно локалізовані GID1-рецептори; як розмір мутації в середині DELLA-домени впливає на ступінь репресії росту. Не вирішені також прикладні питання щодо поліпшення рослин, зокрема, як пов'язані ГК-сигнальні шляхи або окремі алелі комплексів генів короткостебловості з індукцією андрогенеза та морфогенеза в культурі тканин *in vitro*. Крім цього, незрозумілими залишаються і молекулярні процеси взаємодії алелів гібберелін-чутливих та нечутливих генів, які часто зібрані у комплекс у одному генотипі м'якої пшениці. Вирішення останніх питань є важливим для удосконалення та підвищення ефективності прийомів зі створення нових сортів і форм пшениці.

G. Chebotar, S. Chebotar

GIBBERELLIN SIGNALING PATHWAYS IN PLANTS

During the last decade plant growth and development have been investigated at the molecular level. Plant specific family GRAS-proteins plays one of the key roles in the molecular mechanisms of this process. In this report we highlight the importance of DELLA-proteins and show the model of gibberellin signalling pathway in plants that starts from the binding of biologically active gibberellic acid with receptor and DELLA-protein. This complex stimulates ubiquitination and degradation of DELLA-proteins through the proteasome pathway. After degradation of DELLA-proteins the repression of plant growth stops that allows gibberellin response to occur. The role of DELLA-proteins as transcription factors is discussed.

Г.А. Чеботарь, С.В. Чеботарь

ГИББЕРЕЛЛИН-СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ РАСТЕНИЙ

Молекулярные механизмы роста и развития растений детально изучаются в последнее десятилетие. Становится очевидной роль растениеспецифического семейства GRAS-протеинов в этом процессе. В рабо-

те подчеркнуто значение DELLA-протеинов и показана модель гіббереллін-сигнального пути растений, которая начинается со связывания биологически активной гіббереллової кислоти с рецептором и DELLA-протеином. Такой комплекс убиквитинируется, благодаря чему становится мишенью для протеасомной деградации. При разрушении DELLA-протеинов снимается репрессия роста и наблюдается гібберелловый ответ, который проявляется в индукции ростовых процессов. Обсуждаются молекулярные механизмы функционирования DELLA-протеинов как транскрипционных факторов.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Peng J.R., Richards D.E., Hartley N.M. et al. «Green revolution» genes encode mutant gibberellin response modulators // Nature. — 1999. — **400**. — P. 256–261.
2. Peng J., Carol P., Richards D.E. et al. The *Arabidopsis* GAI gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses // Genes Dev. — 1997. — **11**. — P. 3194–3205.
3. King K.E., Moritz T., Harberd N.P. Gibberellins are not required for normal stem growth in *Arabidopsis thaliana* in the absence of GAI and RGA // Genetics. — 2001. — **159**. — P. 767–776.
4. Richards D.E., King K.E., Ait-Ali T. et al. How gibberellin regulates plant growth and development: a molecular genetic analysis of gibberellin signaling // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. — 2001. — **52**. — P. 67–88.
5. Silverstone A.L., Ciampaglio C.N., Sun T. The *Arabidopsis* RGA gene encode a transcriptional regulator repressing the gibberellin signal transduction pathway // Plant Cell. — 1998. — **10**. — P. 155–169.
6. Ikeda A., Ueguchi-Tanaka M., Sonoda Y. et al. Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant is caused by a null mutation of the *SLR1* gene, an ortholog of the height-regulating gene *GAI/RGA/RHT/D8* // Plant Cell. — 2001. — **13**. — P. 999–1010.
7. Chandler P.M., Marion-Poll A., Ellis M. et al. Mutants at the *Slender1* locus of barley cv Himalaya. Molecular and physiological characterization // Plant Physiol. — 2002. — **129**. — P. 181–190.
8. Davies P.J. Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action! — Dordrecht : Kluwer Acad. Publ., 2004.
9. Fleet C.M., Sun T.P. A DELLAcate balance : The role of gibberellin in plant morphogenesis // Curr. Opin. Plant Biol. — 2005. — **8**. — P. 77–85.
10. Griffiths J., Murase K., Rieu I. et al. Genetic characterization and functional analysis of the GID1 gibberellin receptors in *Arabidopsis* // Plant Cell. — 2006. — **18**. — P. 3399–3414. — www.plantcell.org

11. Koning R.E. Gibberellins // Plant Physiology Information Website. — 1994. — http://plantphys.info/plant_physiology/gibberellin.shtml (3–31–2010)
12. Mino M., Oka M., Tasaka Y. et al. Thermoinduction of genes encoding the enzymes of gibberellin biosynthesis and a putative negative regulator of gibberellin signal transduction in *Eustoma grandiflorum* // Plant Cell Rep. — 2003. — **22**. — P. 159–165.
13. Metzger J.D. Comparison of biological activities of gibberellins and gibberellin-precursors native to *Thlaspi arvense* L. // Plant Physiol. — 1990. — **94**, № 1. — P. 151.
14. Hazebroek J.P., Metzger J.D., Mansager E.R. Thermoinductive regulation of gibberellin metabolism in *Thlaspi arvense* L. 2. Cold induction of enzymes in gibberellin biosynthesis // Plant Physiol. — 1993. — **102**, № 8. — P. 547–552.
15. Sponsel V. Environmental control of gibberellin biosynthesis // Plant Physiol. — <http://4e.plantphys.net/article.php?ch=0&id=369>
16. Hedden P., Kamiya Yu. Gibberellin biosynthesis: enzymes, genes and their regulation // Ann. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol. — 1997. — **48**. — P. 431–460.
17. Hedden P., Proebsting W.M. Genetic analysis of gibberellin biosynthesis // Plant Physiol. — 1999. — **119**. — P. 365–370.
18. Thomas S.G., Phillips A.L., Hedden P. Molecular cloning and functional expression of gibberellin-2-oxidases, multifunctional enzymes involved in gibberellin deactivation // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1999. — **96**. — P. 4698–4703.
19. Mayrose M., Ekengren S., Melech-Bonfil S. et al. A novel link between tomato GRAS genes, plant disease resistance and mechanical stress response // Mol. Plant Pathol. — 2006. — **7**, № 6. — P. 593–604.
20. Cao D., Cheng H., Wu W. et al. Gibberellin mobilizes distinct DELLA-dependent transcriptomes to regulate seed germination and floral development in *Arabidopsis* // Plant Physiol. — 2006. — **142**. — P. 509–525.
21. Tian C.G., Wan P., Sun S.H. et al. Genome-wide analysis of the GRAS gene family in rice and *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. — 2004. — **54**. — P. 519–532.
22. Itoh H., Sasaki A., Ueguchi-Tanaka M. et al. Dissection of the phosphorylation of rice DELLA protein, SLENDER RICE1 // Plant Cell Physiol. — 2005. — **46**. — P. 1392–1399.
23. Lee M.H. et al. Large-scale analysis of the GRAS gene family in *Arabidopsis thaliana* // Plant Mol. Biol. — 2008. — **67**. — P. 659–670.
24. Tong H. et al. Dwarfing and low tillering, a new member of the GRAS family, plays positive roles in brassinosteroid signaling in rice // Plant J. — 2009. — **58**, № 5. — P. 803–816.
25. Di Lorenzo L. et al. The SCARECROW gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the *Arabidopsis* root // Cell. — 1996. — **86**. — P. 423–433.
26. Lim J., Jung J. W., Lim C.E. et al. Conservation and diversification of SCARECROW in maize // Plant Mol. Biol. — 2005. — **59**, № 4. — P. 619–630.
27. Stuurman J., Jaggy F., Kuhlemeier C. Shoot meristem maintenance is controlled by GRAS-gene mediated signal from differentiating cells // Genes Dev. — 2002. — **16**. — P. 2213–2218.
28. Morohashi K., Minami M., Takase H. et al. Isolation and characterization of a novel GRAS gene that regulate meiosis-associated gene expression // J. Biol. Chem. — 2003. — **278**. — P. 20865–20873.
29. Bolle C., Koncz C., Chua N.-H. PAT1, a new member of the GRAS family is involved in phytochrome A signal transduction // Genes Dev. — 2000. — **14**. — P. 1269.
30. Schumacher K., Schmitt T., Rosenberg M. et al. The *Lateral suppressor (Ls)* gene of tomato encodes a new member of the VHIID protein family // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1999. — **96**. — P. 290–295.
31. Hellariuta Y. et al. The SHORT-ROOT gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling // Cell. — 2000. — **111**. — P. 557–567.
32. Dill A., Thomas S.G., Hu J. et al. The *Arabidopsis* F-box protein SLEEPY1 targets gibberellin signaling repressors for gibberellin-induced degradation // Plant Cell. — 2004. — **16**. — P. 1392–1405.
33. Richards D.E., Peng J., Harberd N.P. et al. Plant GRAS and metazoan STATs: one family? // Bioessays. — 2000. — **22**. — P. 573–577.
34. Hirsh S., Oldroyd G. Gras-domain transcription factors that regulate plant development // Plant Signal. and Behav. — 2009. — **4**, № 8. — P. 1–3.
35. Olszewski N., Sun T., Gubler F. Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism and response pathways // Plant Cell. — 2002. — **14**. — P. 61–80.
36. Dill A., Sun T. Synergistic derepression of gibberellin signaling by removing RGA and GAI function in *Arabidopsis thaliana* // Genetics. — 2001. — **159**. — P. 777–785.
37. Wen C.K., Chang C. *Arabidopsis* RGL1 encodes a negative regulator of gibberellin responses // Plant Cell. — 2002. — **14**. — P. 87–100.
38. Cheng H., Qin L., Lee S. et al. Gibberellin regulates *Arabidopsis* floral development via suppression of DELLA protein function // Development. — 2004. — **131**. — P. 1055–1064.
39. Tyler L., Thomas S.G., Hu J. et al. DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in *Arabidopsis* // Plant Physiol. — 2004. — **135**. — P. 1008–1019.

40. Lee S., Cheng H., King K.E. et al. Gibberellin regulates Arabidopsis seed germination via RGL2, a GAI/RGA-like gene whose expression is up-regulated following imbibition // *Genes Dev.* – 2002. – **16**. – P. 646–658.
41. Hussain A., Cao D., Peng J. Identification of conserved tyrosine residues important for gibberellin sensitivity of Arabidopsis RGL2 protein // *Planta.* – 2007. – **226**. – P. 475–483.
42. Gubler F., Chandler P.M., White R.G. et al. Gibberellin signaling in barley aleurone cells: Control of SLN1 and GAMYB expression // *Plant Physiol.* – 2002. – **129**. – P. 191–200.
43. Itoh H., Ueguchi-Tanaka M., Sato Y. et al. The gibberellin signaling pathway is regulated by the appearance and disappearance of SLENDER RICE1 in nuclei // *Plant Cell.* – 2002. – **14**. – P. 57–70.
44. Chen F., Nonogaki H., Bradford K.J. A gibberellin-regulated xyloglucan endotransglycosylase gene is expressed in the endosperm cap during tomato seed germination // *J. Exp. Bot.* – 2002. – **53**. – P. 215–223.
45. Chen F., Bradford K.J. Expression of an expansin is associated with endosperm weakening during tomato seed germination // *Plant Physiol.* – 2000. – **124**. – P. 1265–1274.
46. Bewley J.D. Seed germination and dormancy // *Plant Cell.* – 1997. – **9**. – P. 1055–1066.
47. Yuan M., Shaw P.J., Warn R.M. et al. Dynamic reorientation of cortical microtubules, from transverse to longitudinal, in living plant cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1994. – **91**. – P. 6050–6053.
48. Uno Y., Furihata T., Abe H. et al. Arabidopsis basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2000. – **97**. – P. 11632–11637.
49. Petit J.M., Briat J.F., Lobreaux S. Structure and differential expression of the four members of the Arabidopsis thaliana ferritin gene family // *Biochem. J.* – 2001. – **359**. – P. 575–582.
50. Wang J.W., Wang L.J., Mao Y.B. et al. Control of root cap formation by microRNA-targeted auxin response factors in Arabidopsis // *Plant Cell.* – 2005. – **17**. – P. 2204–2216.
51. De Lucas M. et al. A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation // *Nature.* – 2008. – **451**. – P. 480–484.
52. Feng S. et al. Coordinated regulation of Arabidopsis thaliana development by light and gibberellins // *Nature.* – 2008. – **451**. – P. 475–479.
53. Ueguchi-Tanaka M., Nakajima M., Motoyuki A. et al. Gibberellin receptor and its role in gibberellin signaling in plants // *Ann. Rev. Plant. Biol.* – 2007. – **58**. – P. 183–198. – <http://plant.annualreviews.org/10.1146/annurev.arplant.58.032806.103830>
54. Ueguchi-Tanaka M., Ashikari M., Nakajima M. et al. GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 encodes a soluble receptor for gibberellin // *Nature.* – 2005. – **437**. – P. 693–698.
55. Sasaki A., Itoh H., Gomi K. et al. Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant // *Science.* – 2003. – **299**. – P. 1896–1898.
56. Gomi K., Sasaki A., Itoh H. et al. GID2, an F-box subunit of the SCF E3 complex, specifically interacts with phosphorylated SLR1 protein and regulates the gibberellin-dependent degradation of SLR1 in rice // *Plant J.* – 2004. – **37**. – P. 626–634.
57. Eckardt N. GA perception and signal transduction: molecular interactions of the GA receptor GID1 with GA and the DELLA protein SLR1 in rice // *Plant Cell.* – 2007. – **19**. – P. 2095–2097.
58. Nakajima M., Shimada A., Takashi Y. et al. Identification and characterization of Arabidopsis gibberellin receptors // *Plant J.* – 2006. – **46**. – P. 880–889.
59. Willige B., Ghosh S., Nill C. et al. The DELLA domain of GA INSENSITIVE mediates the interaction with the GA INSENSITIVE DWARF1A gibberellin receptor of Arabidopsis // *Plant Cell.* – 2007. – **19**. – P. 1209–1220. – www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.107.051441
60. Silverstone A.L., Jung H.S., Dill A. et al. Repressing a repressor: Gibberellin-induced rapid reduction of RGA protein in Arabidopsis // *Plant Cell.* – 2001. – **13**. – P. 1555–1566.
61. Fu X., Richards D.E., Fleck B. et al. The Arabidopsis mutant sleepy1gar2-1 protein promotes plant growth by increasing the affinity of the SCFSLY1 E3 ubiquitin ligase for DELLA protein substrates // *Plant Cell.* – 2004. – **16**. – P. 1406–1418.
62. Hussain A., Cao D.N., Cheng H. et al. Identification of the conserved serine/threonine residues important for gibberellin-sensitivity of Arabidopsis RGL2 protein // *Plant J.* – 2005. – **44**. – P. 88–99.
63. Smalle J., Vierstra R.D. The ubiquitin 26S proteasome pathway // *Ann. Rev. Plant Biol.* – 2004. – **55**. – P. 555–590.
64. Zheng N., Schulman B.A., Song L. et al. Structure of the Cul1-Rbx1-Skp1-F boxSkp2 SCF ubiquitin ligase complex // *Nature.* – 2002. – **416**. – P. 703–709.
65. Boss P.K., Thomas M.R. Association of dwarfism and floral induction with a grape 'green revolution' mutation // *Nature.* – 2002. – **416**. – P. 847–850.

66. Remington D.L., Purugganan M.D. GAI homologues in the Hawaiian silversword alliance (Asteraceae-Madiinae): Molecular evolution of growth regulators in a rapidly diversifying plant lineage // *Mol. Biol. Evol.* – 2002. – **19**. – P. 1563–1574.
67. Bassel G.W., Zielinska E., Mullen R.T. et al. Down-regulation of DELLA genes is not essential for germination in tomato, soybean, and Arabidopsis seeds // *Plant Physiol.* – 2004. – **136**. – P. 2782–2789.
68. Ariizumi T., Steber C.M. Ubiquitin Becomes Ubiquitous in GA Signaling // Department of Crop and Soil Science, and USDA-ARS, Washington State University, Pullman, Washington, USA; September, 2006. – <http://4e.plantphys.net/article.php?ch=20&id=382>.
69. Lester D.R., Ross J.J., Davies P.J. et al. Mendel's stem length gene (*Le*) encodes gibberellin 3 β -hydroxylase // *Plant Cell.* – 1997. – **9**. – P. 1435–1443.
70. Martin D.N., Proebsting W.M., Hedden P. Mendel's dwarfing gene: cDNA from the *Le* alleles and function of the expressed proteins // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1997. – **94**. – P. 8907–8911.
71. Hedden P. Green revolution genes // *Plant Phys.* – 2006. – <http://4e.plantphys.net/article.php?ch=e&id=355>.

Надійшла 27.05.10