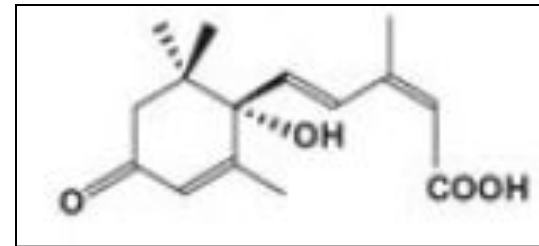


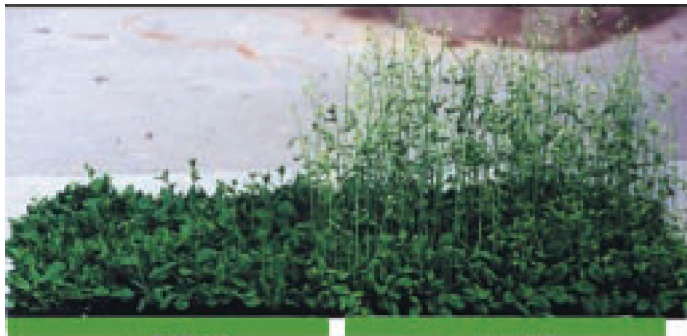
# Абсцизовая кислота (АБК)

«гормон покоя», «гормон засухи»,  
антагонист гиббереллинов



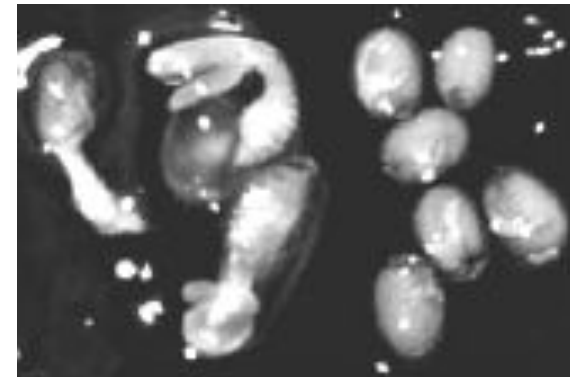
+ АБК

- АБК



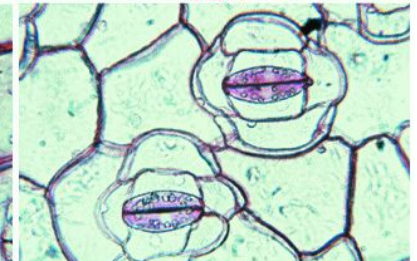
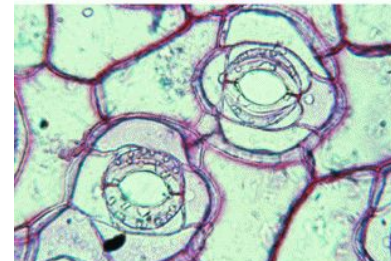
- АБК

+АБК



- АБК

+ АБК

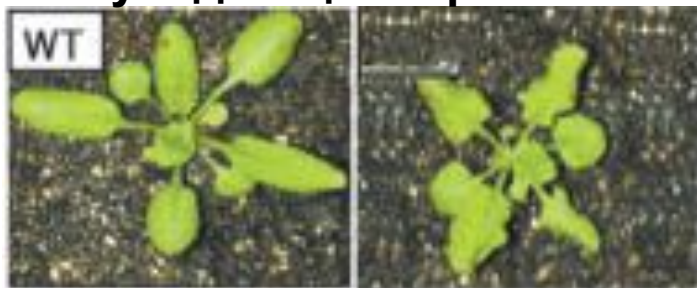


# Фенотипы мутантов по АБК

вивипария



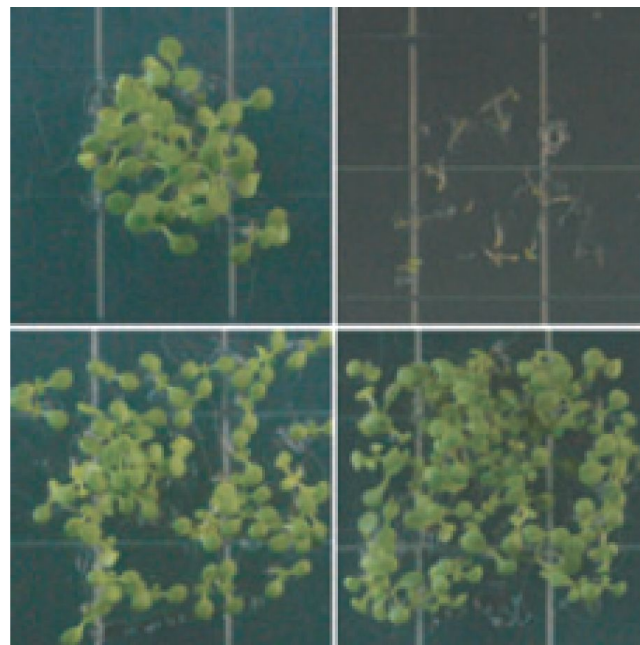
«увядающий» фенотип



*aba* (*ABA deficient*)-  
мутанты по биосинтезу АБК

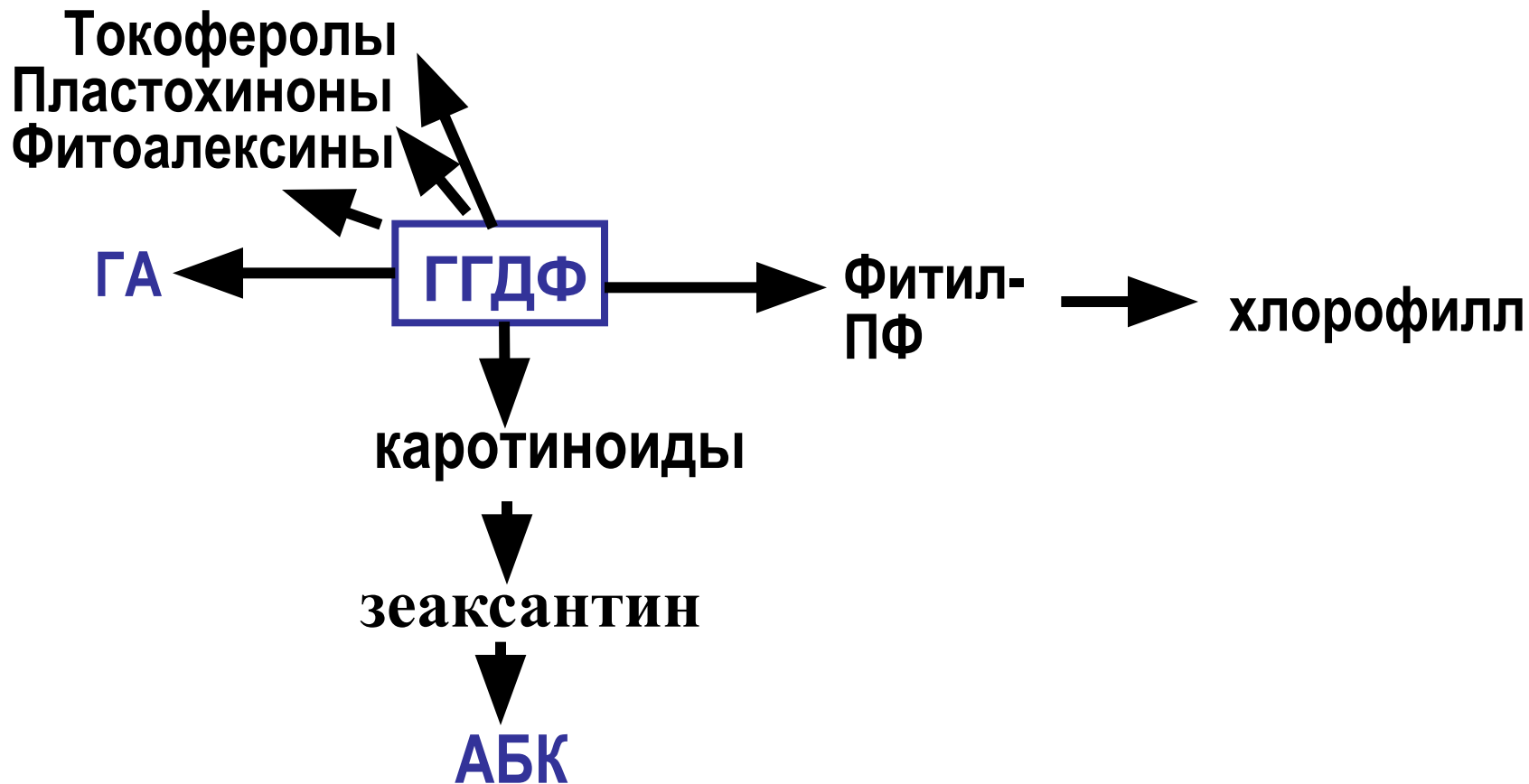
Нечувствительность к высоким  
концентрациям АБК

1  $\mu$ M  
АВА



*abi* (*ABA insensitive*),  
*abar* (*ABA resistant*) -  
мутанты по передаче сигнала АБК

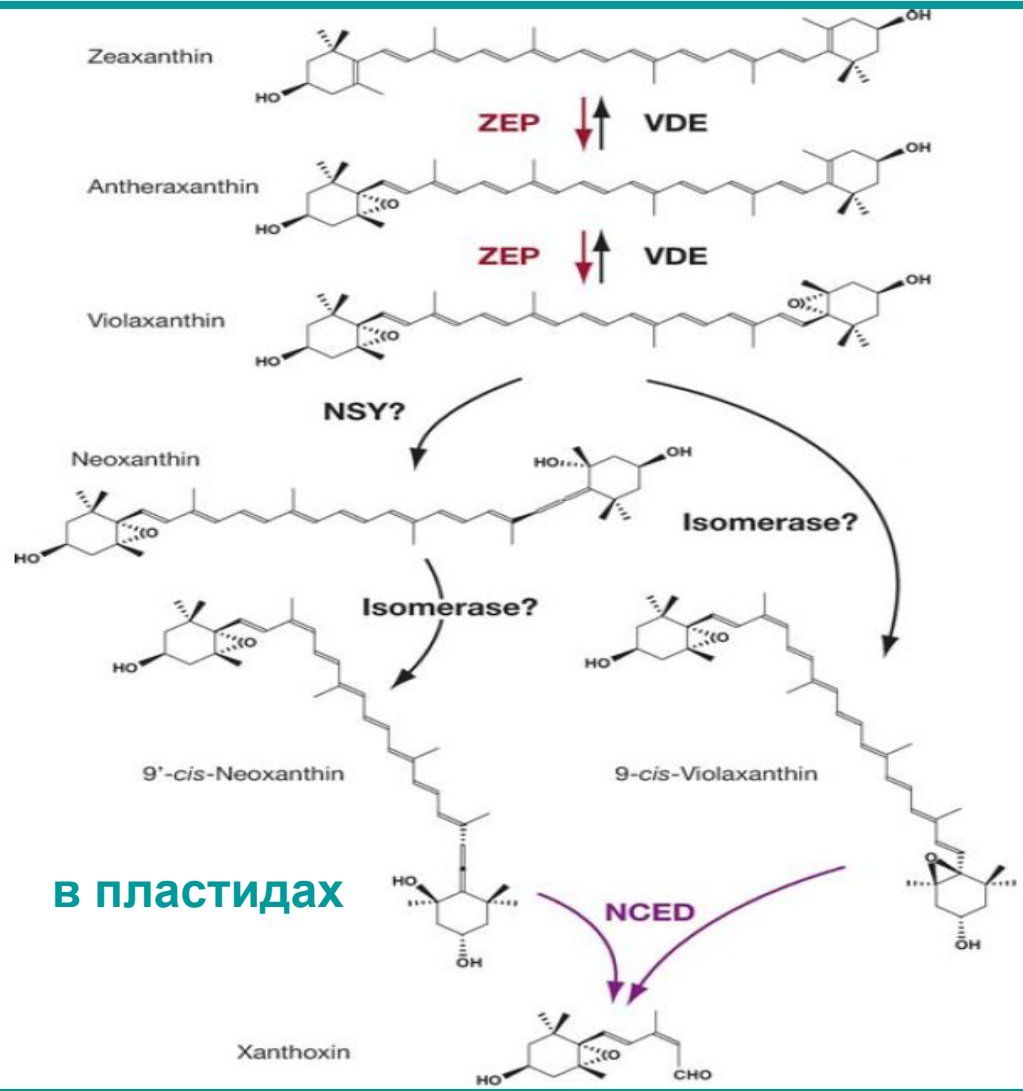
# Связь биосинтеза гиббереллинов и АБК



# Биосинтез АБК

## Основные ферменты:

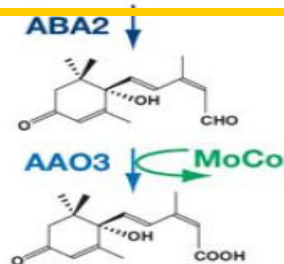
1. зеаксантин-эпоксидазы (**ZEP**) - синтез виолоксантина из зеаксантина
2. ликопен-циклазы- $\beta$  (LCYB, **NSY**) - синтез неоксантина из виолоксантина
3. N-цис-эпоксикаротеноид-диоксигеназы (**NCED**) - синтез ксантоксина из цис-неоксантина
4. АБК-альдегидоксидазы (**ABA2, AAO3**) - синтез АБК из ксантоксина через АБК-альдегид



## в цитозоле

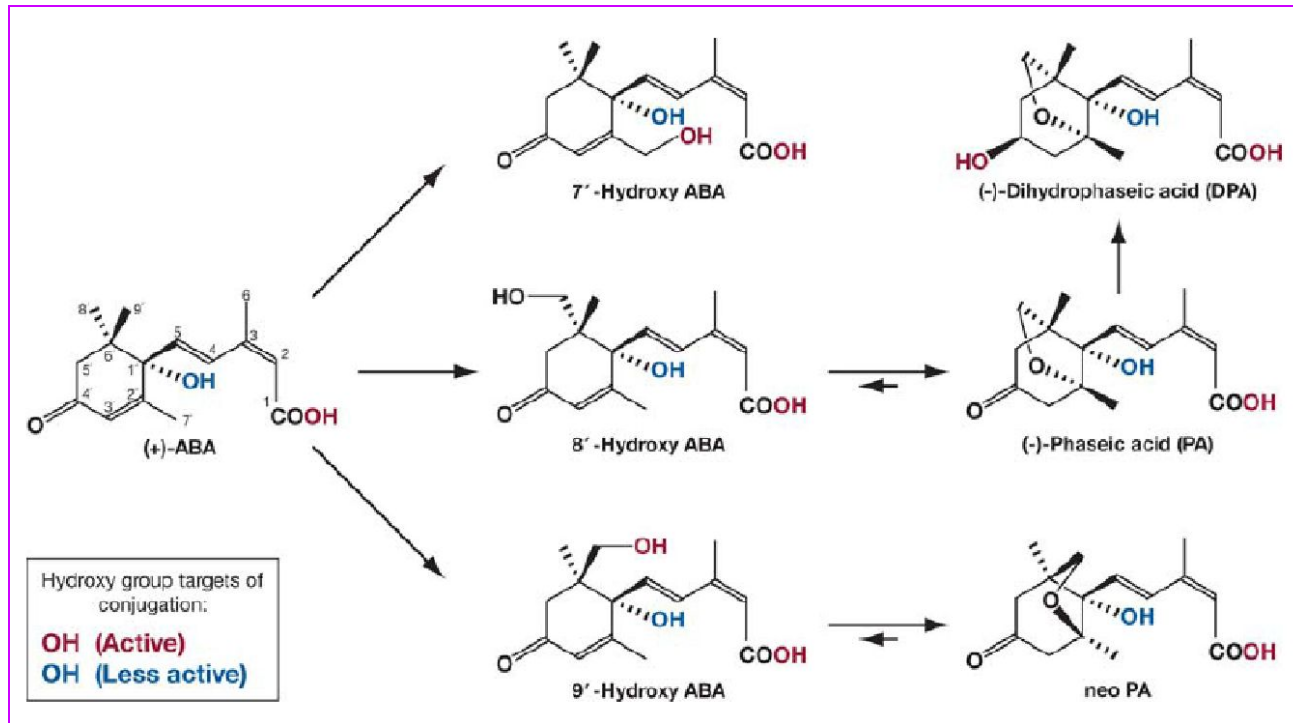
Abscisic aldehyde

Abscisic acid

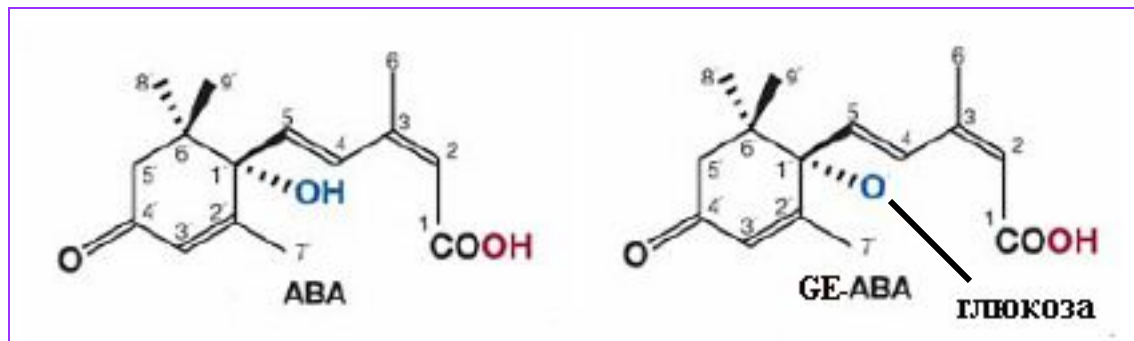


# Инактивация АБК:

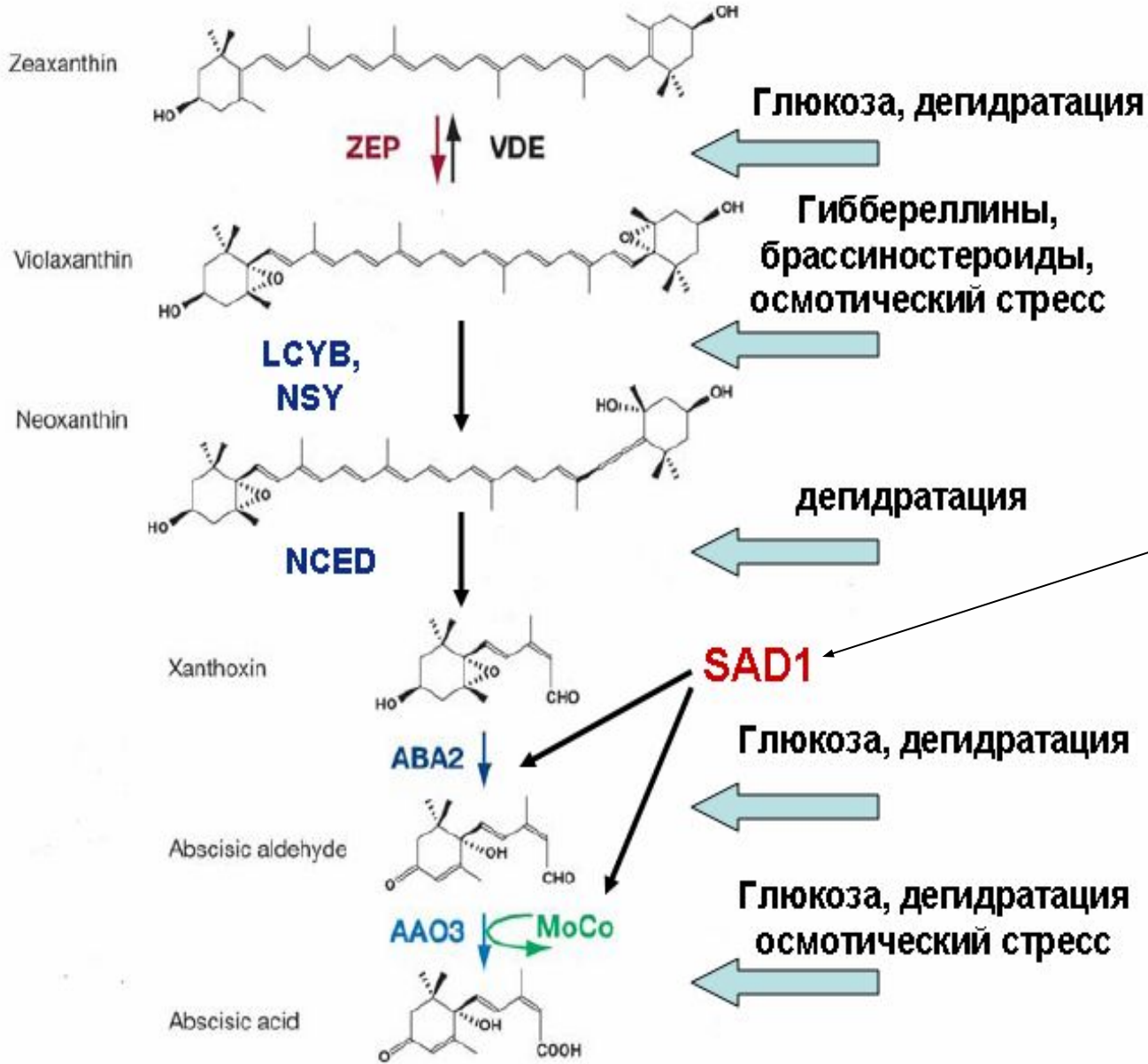
## 1. 7-, 8- и 9-гидроксилирование



## 2. Гликозилирование по гидроксильной группе С1



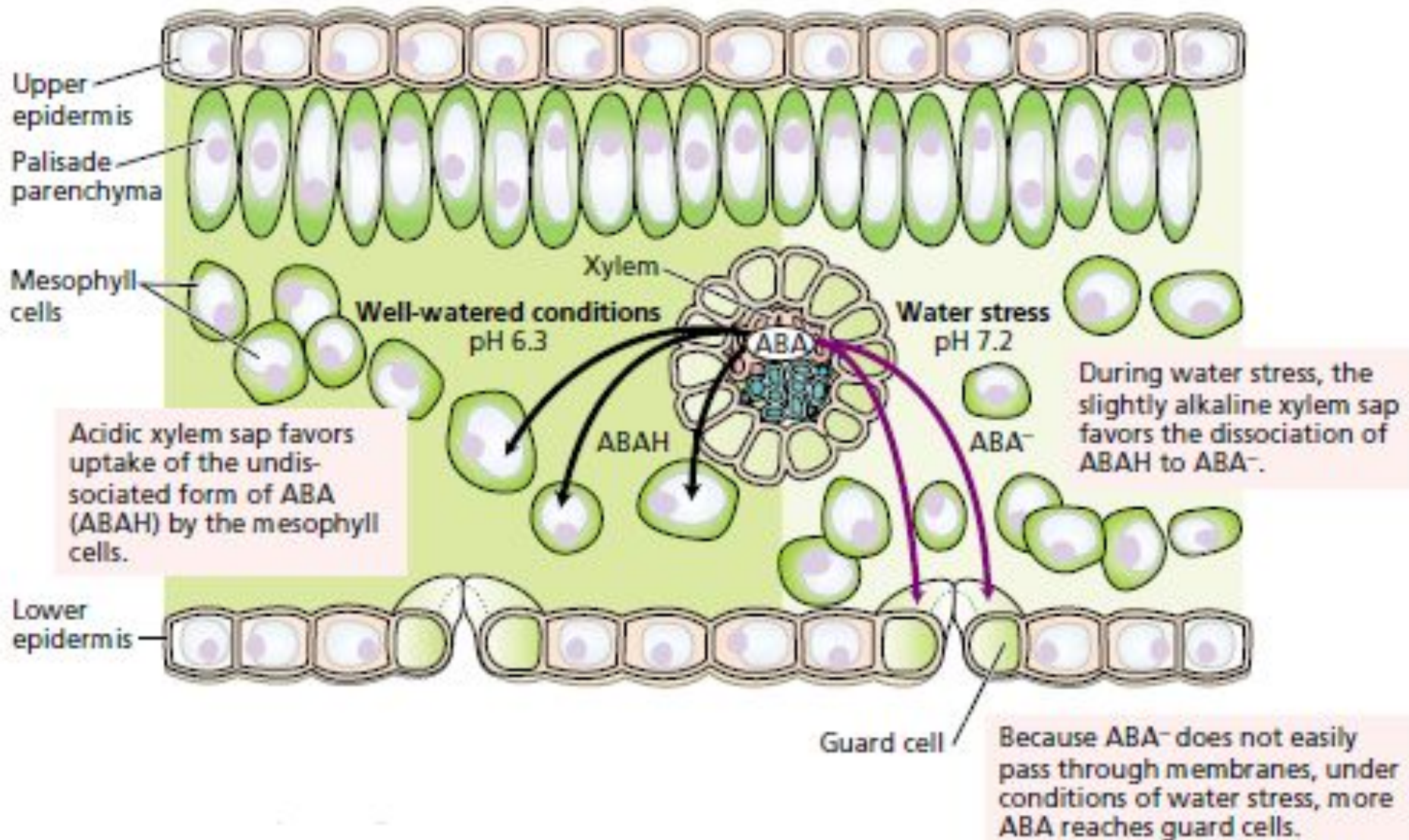
# Регуляция экспрессии генов биосинтеза АБК



Контроль на уровне сплайсинга РНК:

**SAD1**  
(Supersensitive to ABA and Drought) –  
Белок семейства SnRNP

# Контроль транспорта АБК к устьицам при дефиците воды



# Метаболизм и транспорт АБК в клетке арабидопсиса

## Метаболизм

## Транспорт

Начальные этапы биосинтеза АБК (до ксантоксина) – в хлоропластах, последние 2 этапа – в цитозоле

Катаболизм АБК: гидроксилирование и превращение в phaseic acid (PA) и dihydrophaseic acid (DPA)

Образование конъюгатов АБК – гликозилирование с помощью уридиндифосфат-гликозилтрансферазы

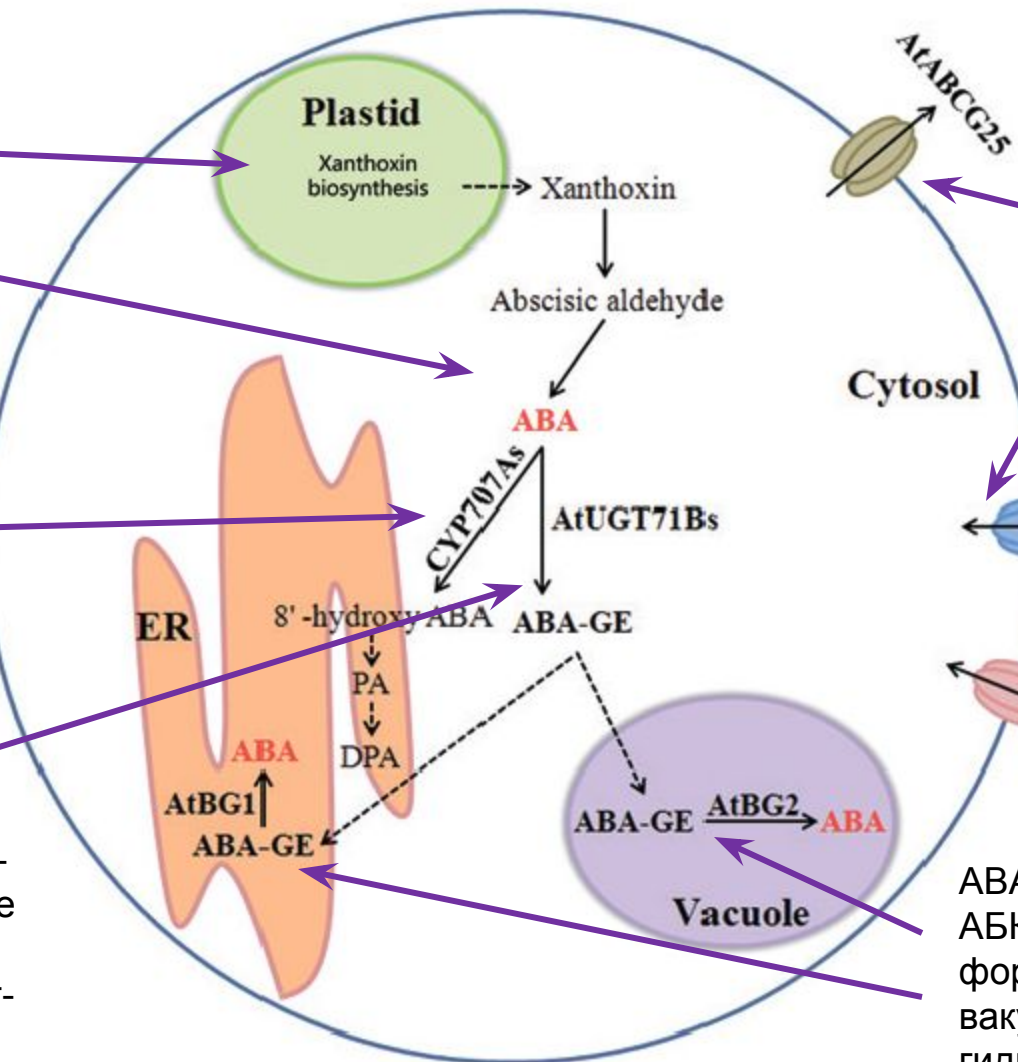
Транспортные белки семейства ATP-binding cassette (ABC-transporters):

ABCG25 – экспорт АБК (работает везде)  
ABCG40 – импорт АБК (работает в замыкающих клетках устьиц)

Нитратный транспортер

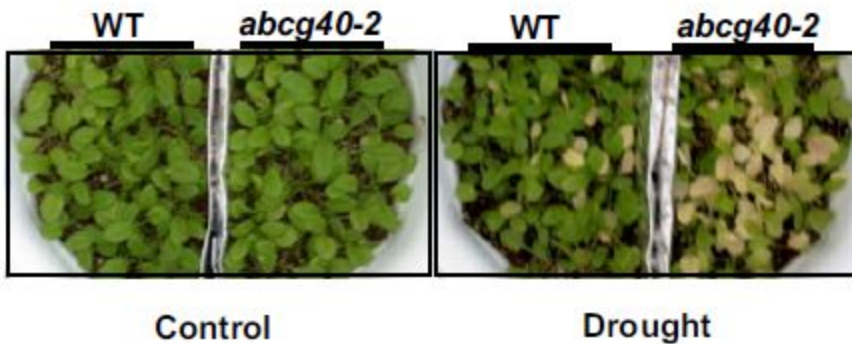
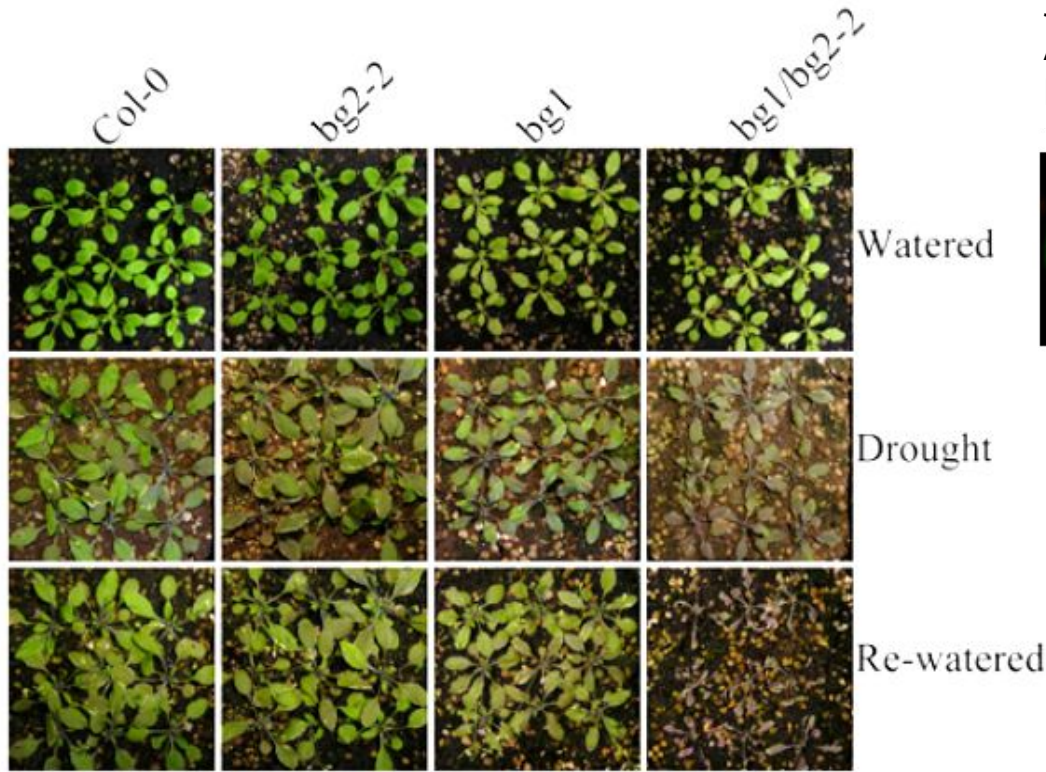
AT1/NRT1 – еще один импортер АБК

АВА-ГЕ – глюкозильный эфир АБК, основная запасная форма, накапливается в вакуолях и ЭР, при стрессе – гидролизуется  $\beta$  глюкозидазами (AtBG)

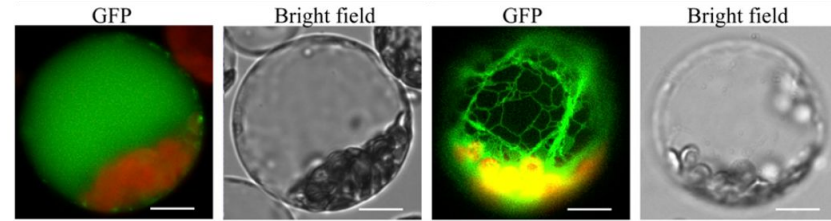




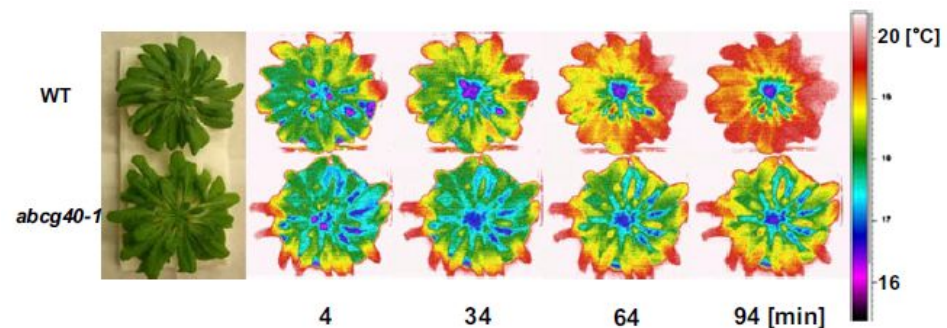
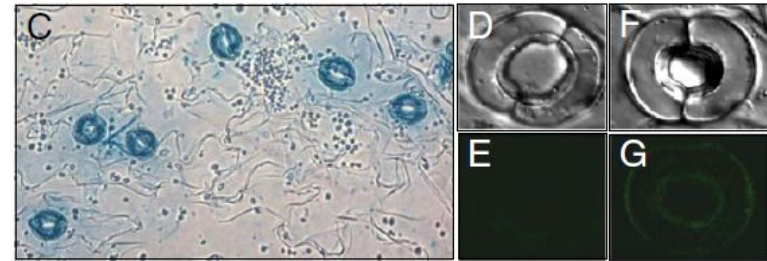
# Мутанты с нарушением метаболизма и транспорта АБК: не выдерживают засухи



Локализация глюкозидаз, высвобождающих АБК из конъюгатов:  
BG2 в вакуоли, BG1 – в ЭР

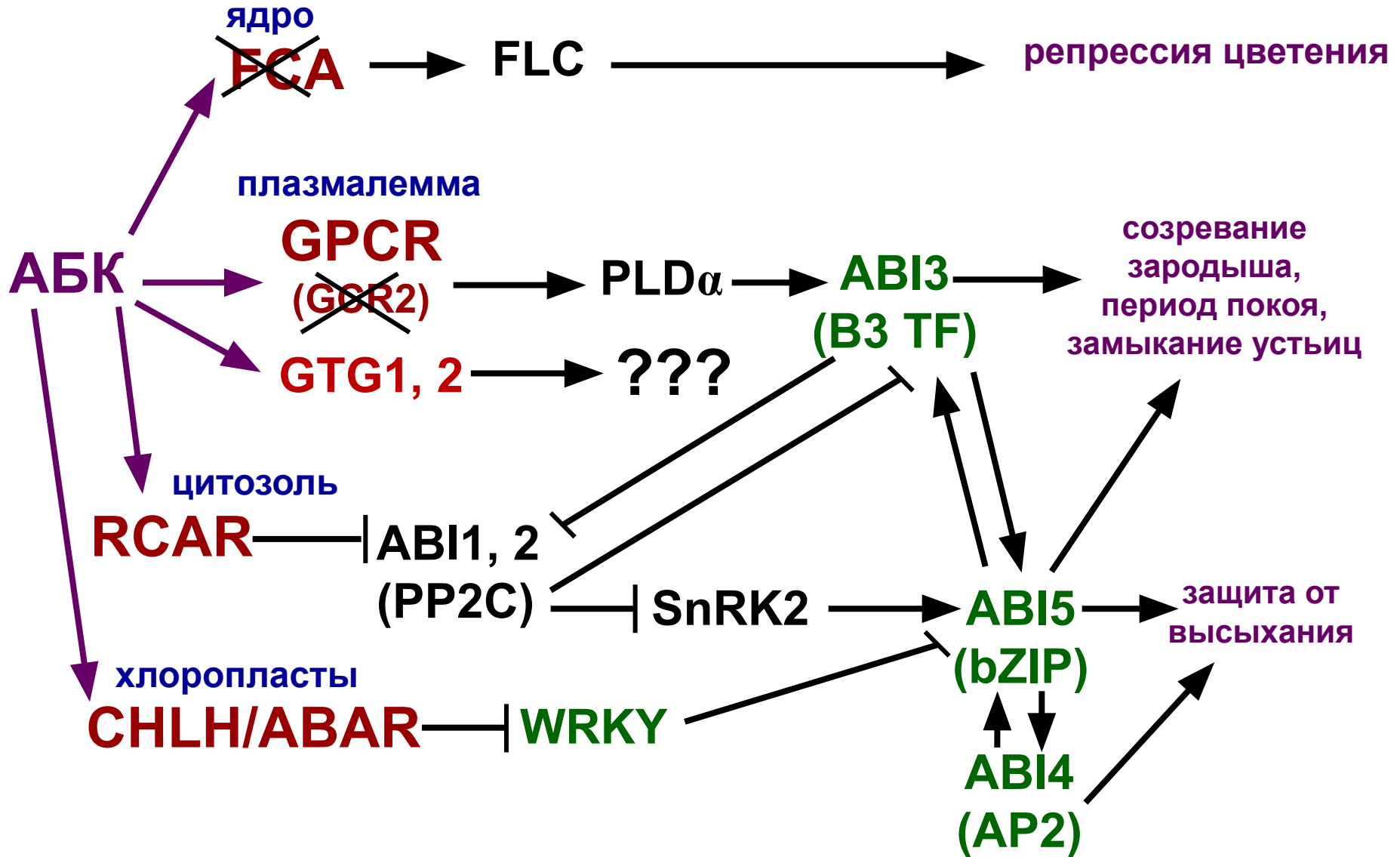


Локализация импортера АБК ABCG40 в замыкающих клетках устьиц



Задержка роста температуры тканей при подаче АБК у мутанта по транспорту

# Рецепция и передача сигнала АБК



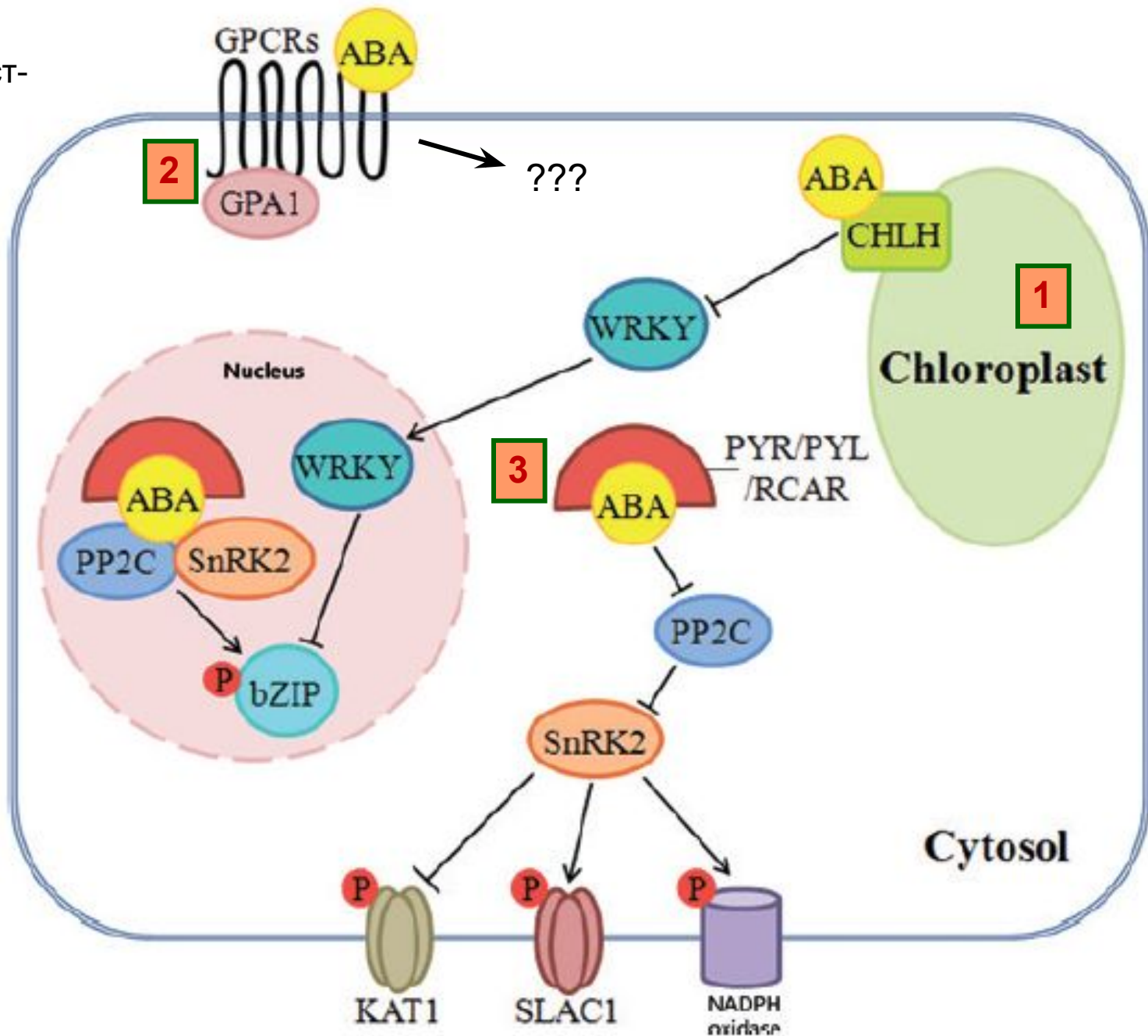
? Три независимых рецептора запускают независимые пути передачи сигнала для реализации разных программ развития ?

# Рецепция и передача сигнала АБК

1 Хлоропласт-  
ный  
рецептор

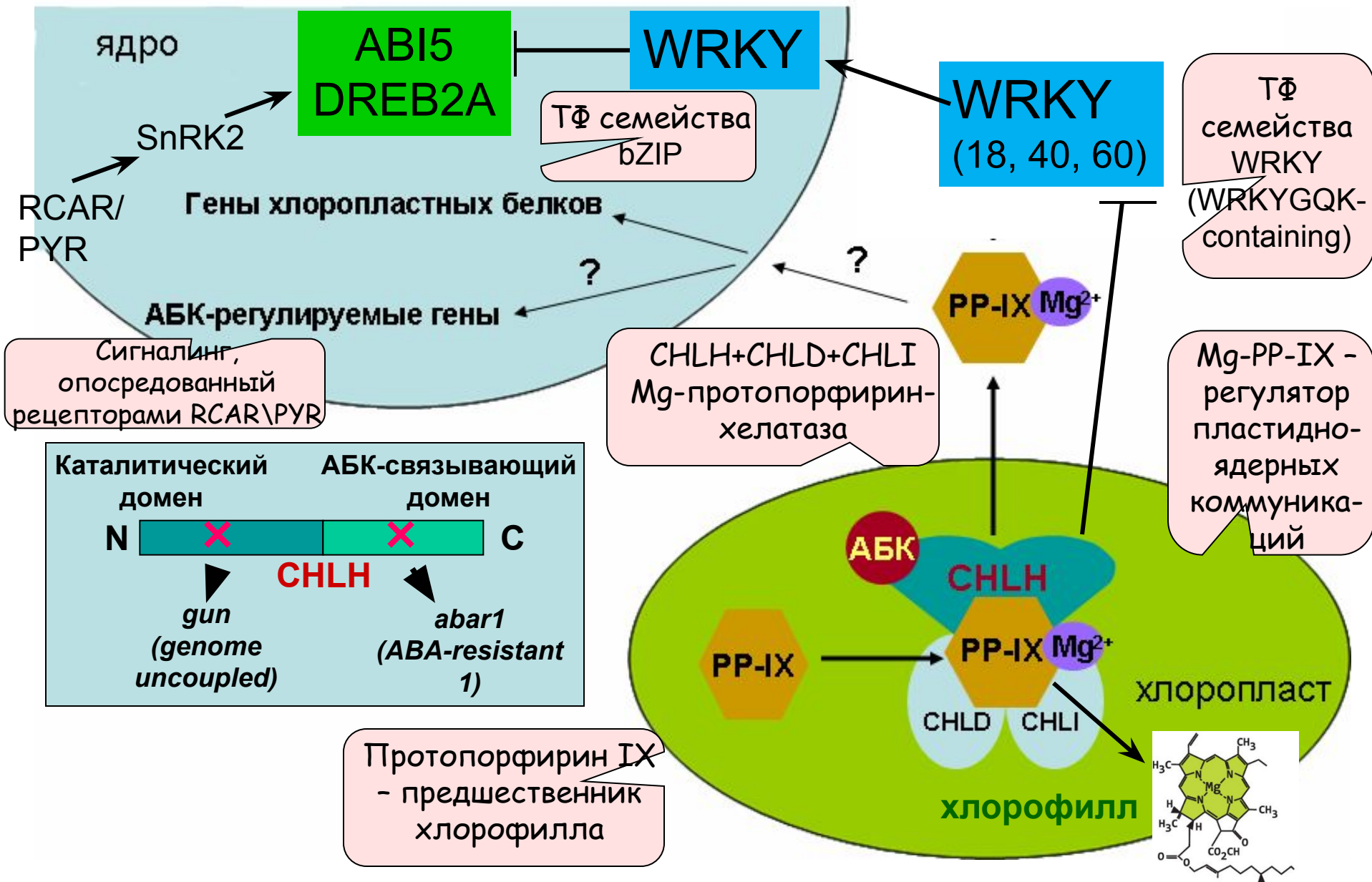
2 Гипотетиче-  
ские GPCR

3 Цитозоль-  
ный  
рецептор



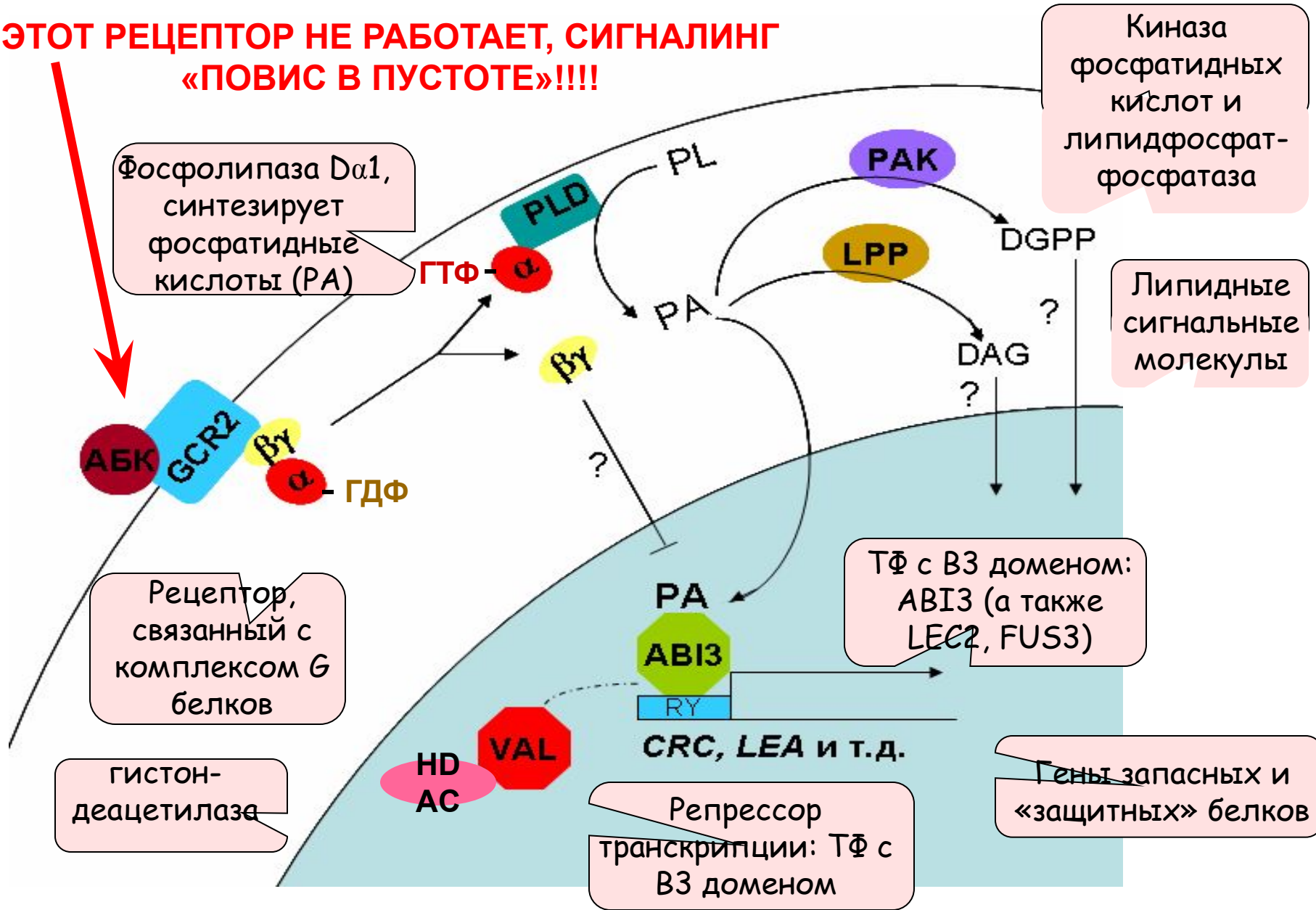
# CHLH/ABAR/GUN5 – хлоропластный рецептор АБК

Регуляция экспрессии генов



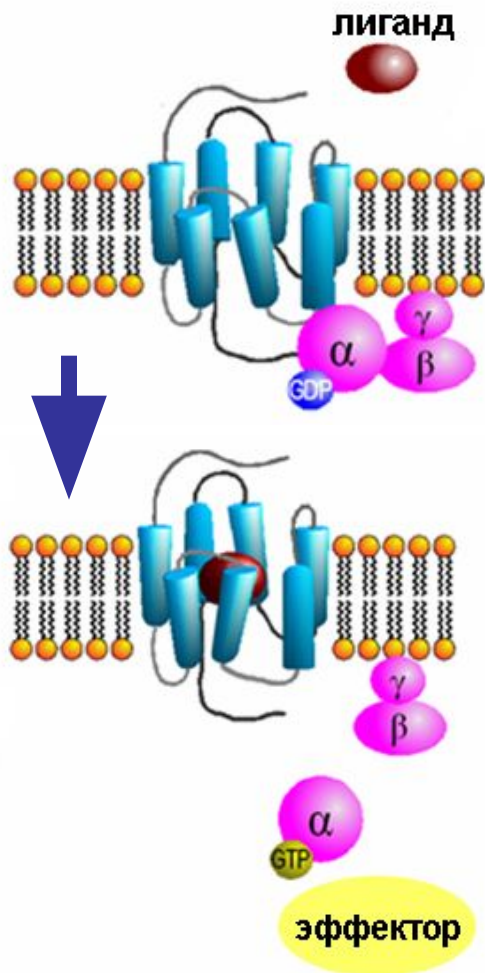
# GPCR (G-Protein Coupled Receptors) – плазмалемные рецепторы АБК

**ЭТОТ РЕЦЕПТОР НЕ РАБОТАЕТ, СИГНАЛИНГ «ПОВИС В ПУСТОТЕ»!!!!**



# GTG1/2 (GPCR-Type G-proteins 1 и 2) – новый тип GPCR-рецепторов АБК

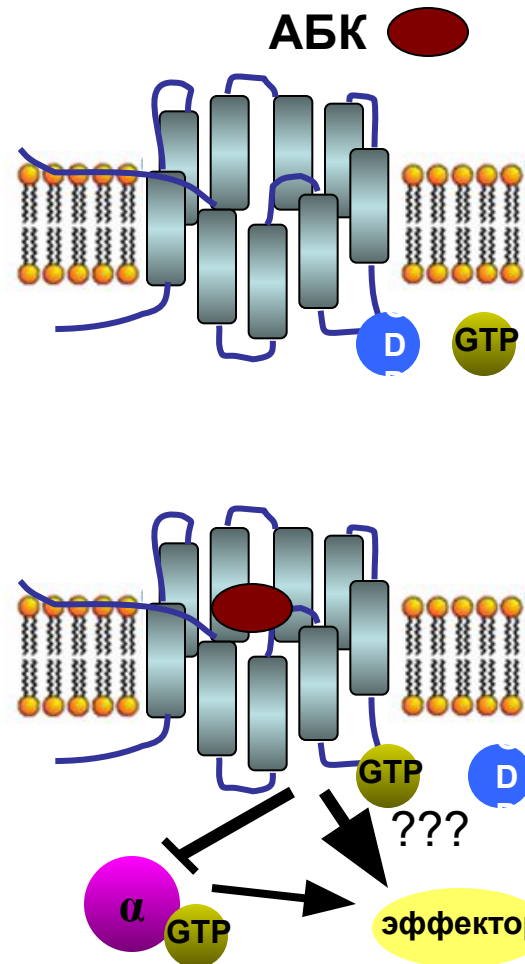
## «классические» GPCR



Подавляет  
ГТФ-  
связывающую  
активность  $G_{\alpha}$

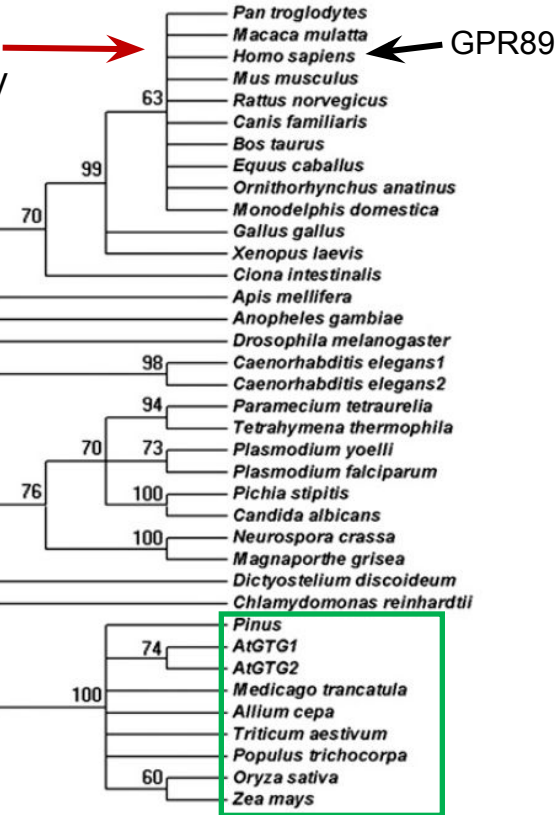
## GTG

АБК

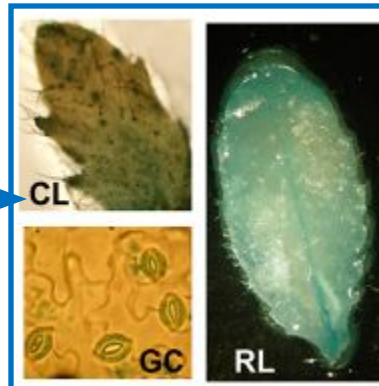


# Рецепторы GTG1/2

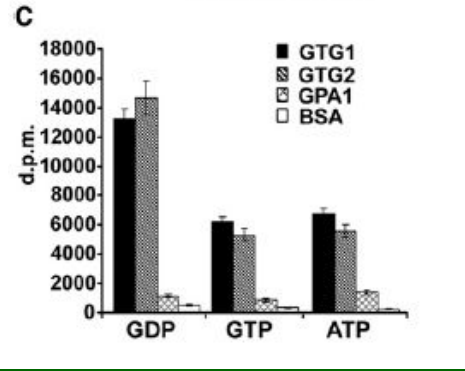
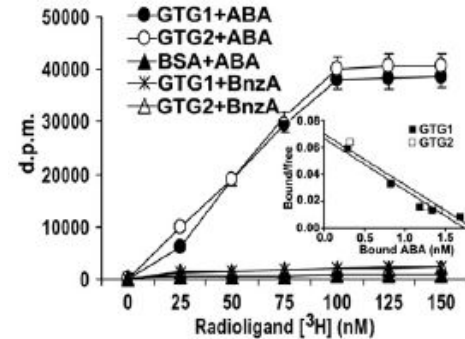
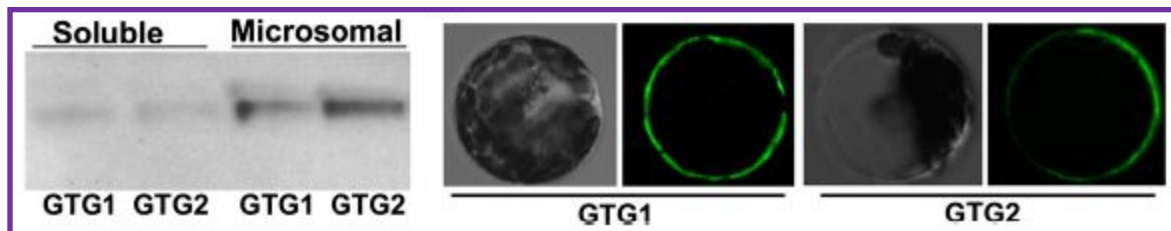
Близки к рецептору GPR89 человека



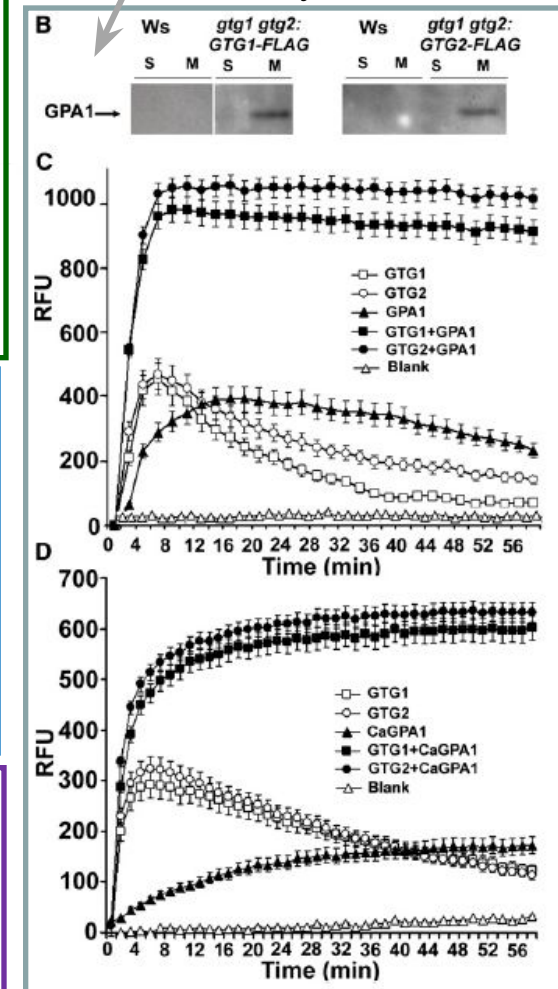
Гены GTG1 и 2 экспрессируются сильнее всего в проводящей системе и замыкающих клетках



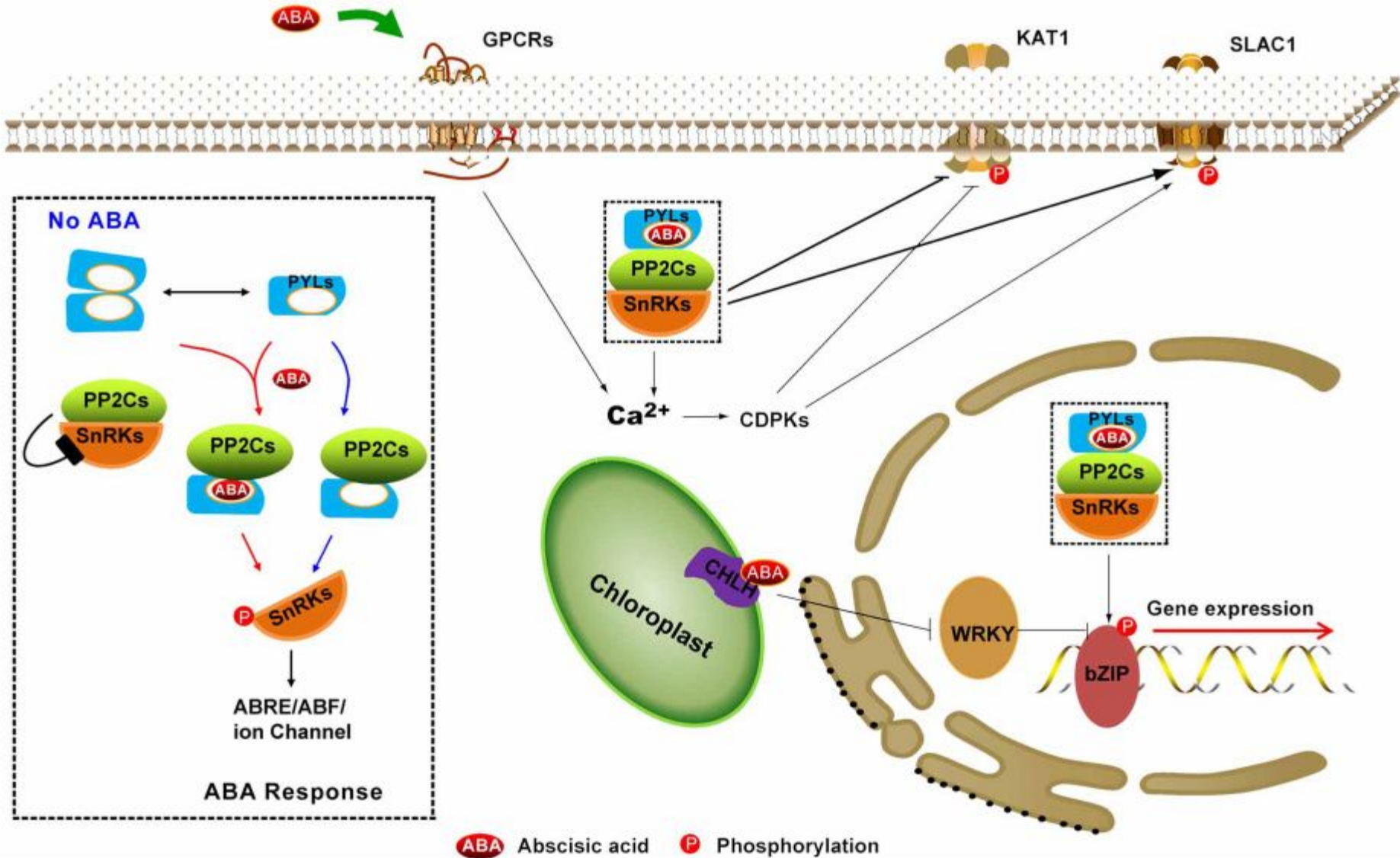
Белки GTG1 и 2 локализованы на плазмалемме



Связывают АБК  
 GPA взаимодействует с GTG и снижает их ГТФазную активность



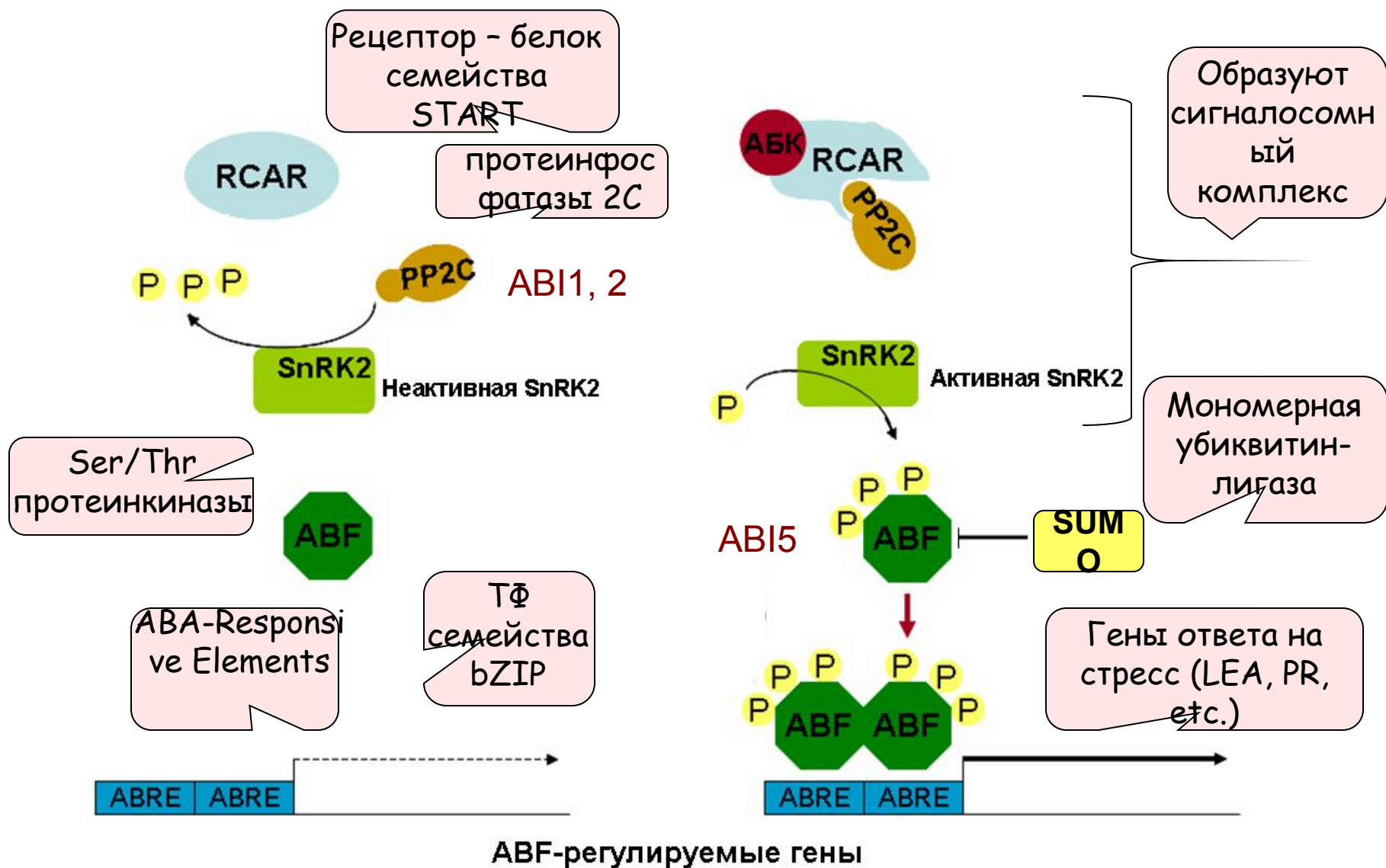
По современным представлениям GPCRs и CHLH являются «вспомогательными» рецепторами АБК, основную функцию выполняют рецепторы RCAR/PYR



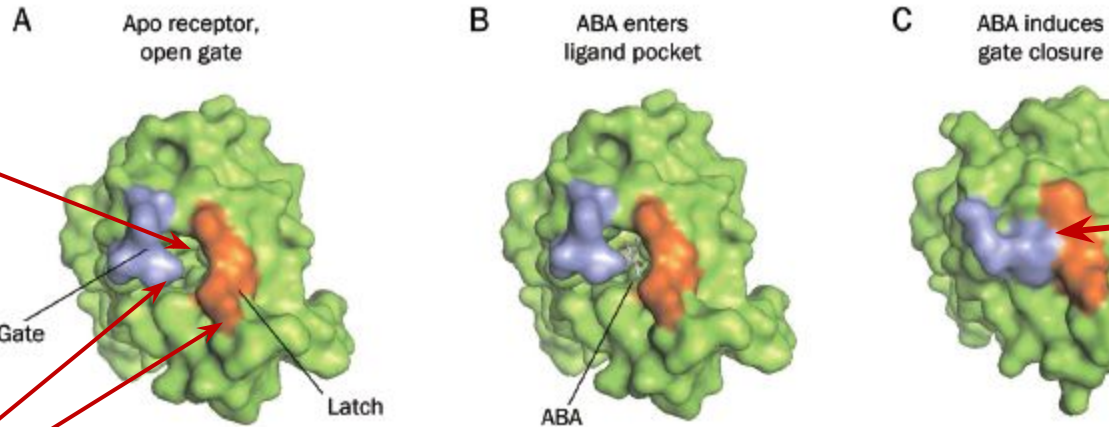


# RCAR/PYR/PYL – цитозольные рецепторы АБК

(Regulatory Components of ABA Receptor/ Pyrobactin Resistant/ Pyrobactin Resistant-Like)



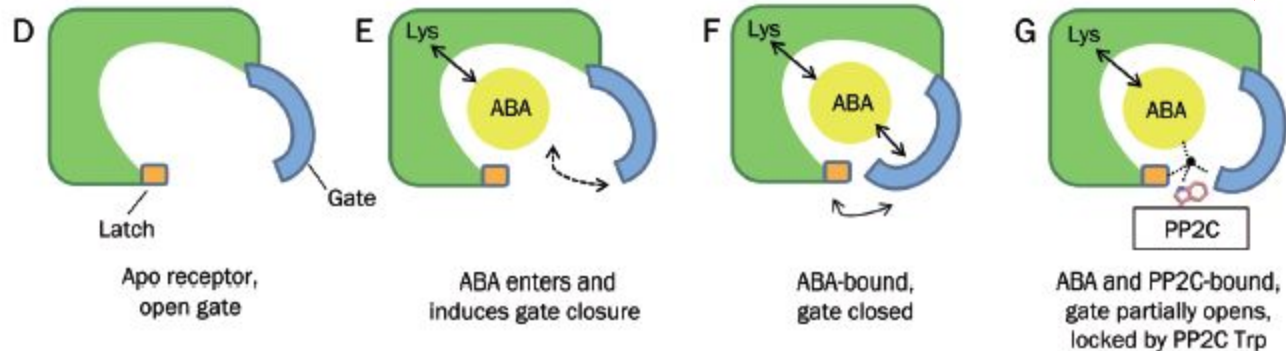
# Модель взаимодействия RCAR/PYR/PYL с АБК и PP2C: «калитка и задвижка»



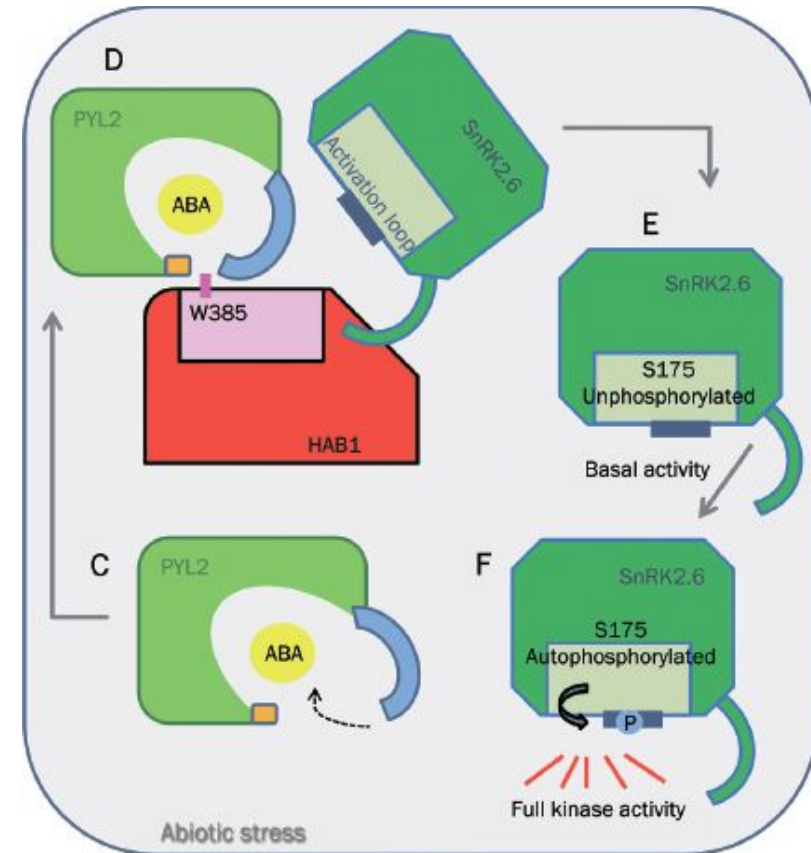
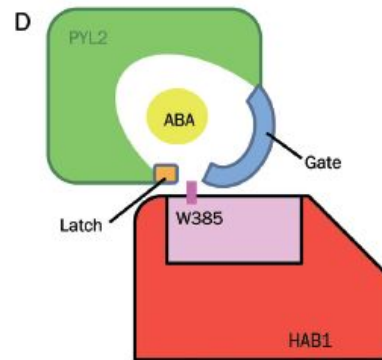
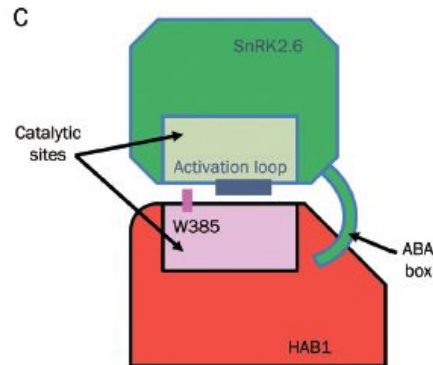
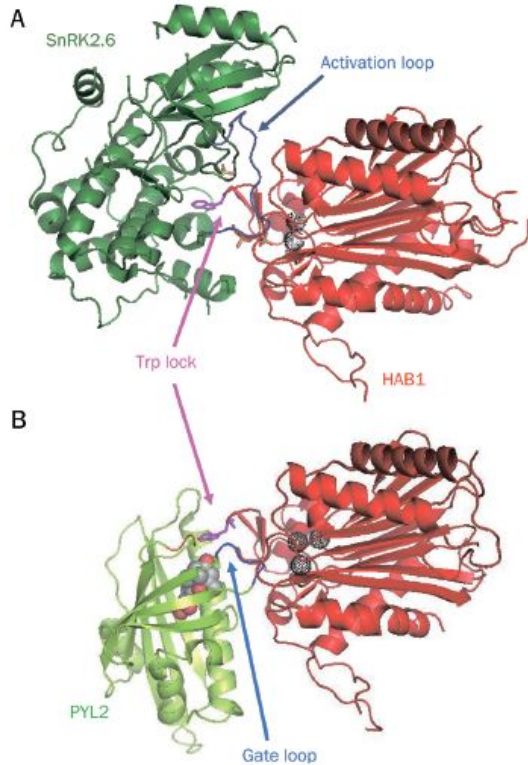
PP2C  
связывается с  
«закрытой  
калиткой» и  
АБК

«карман» для  
лиганда, для  
связывания  
важны  
консервативные  
остатки Lys

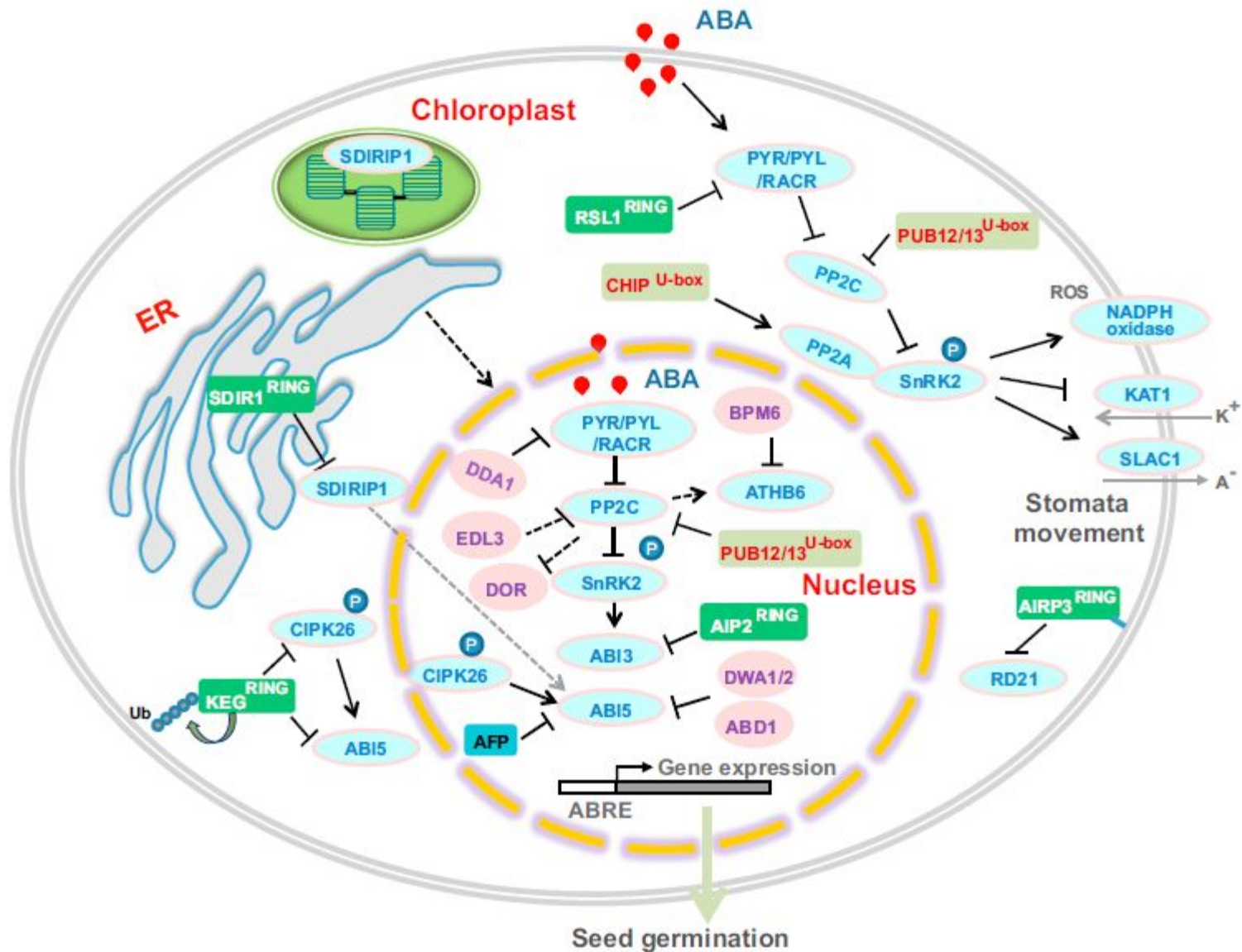
2 важные  $\beta$ -  
петли

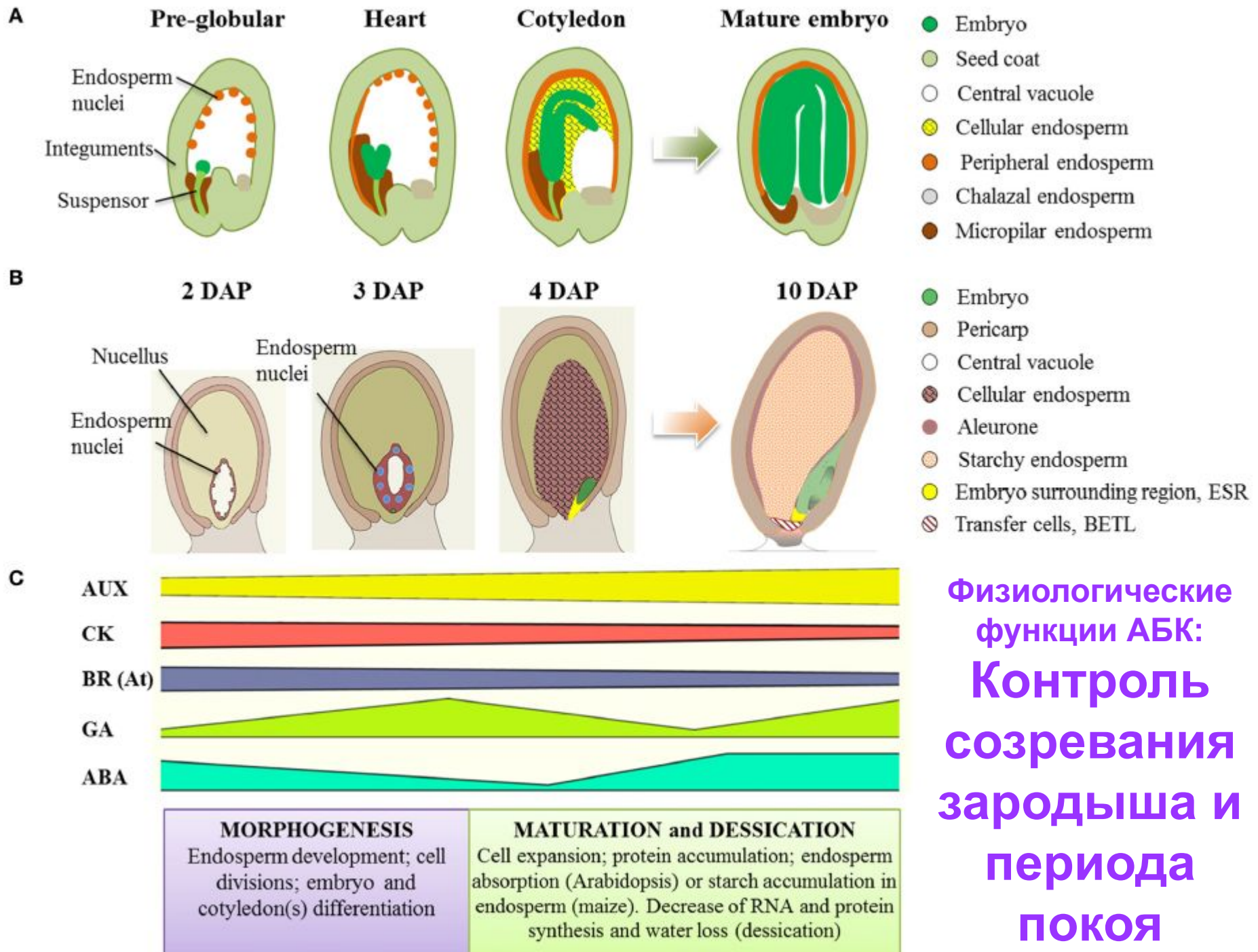


# Модель взаимодействия белков PYR, PP2C и SnRK2 (HAB1 = PP2C)

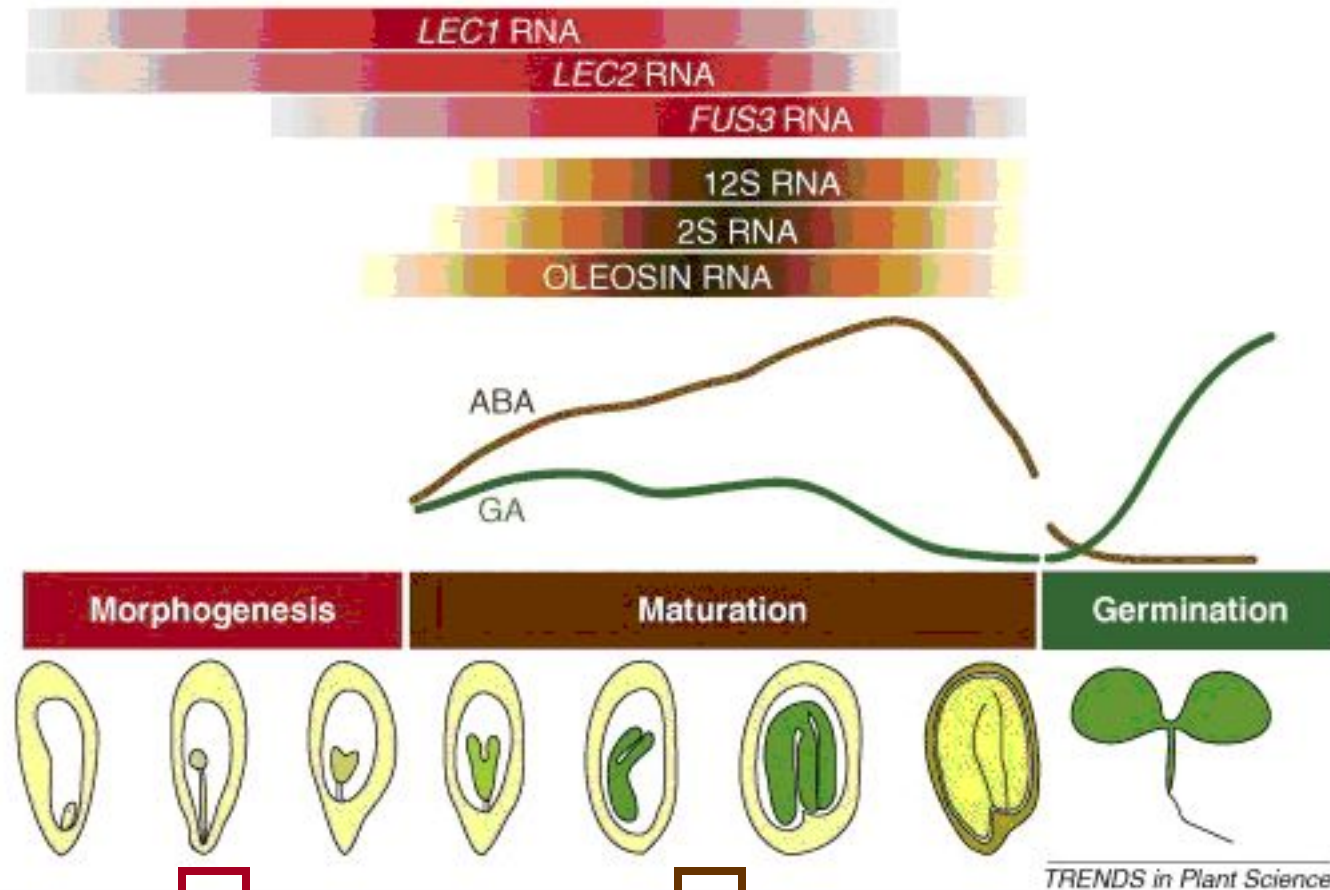


В «дозировании» ответа на АБК принимает участие большое количество мономерных убиквитин-лигаз





# Стадии эмбриогенеза семенных растений



- Формирование плана тела
- Спецификация тканей и органов

- Рост зародыша
- Накопление макромолекул
- Защита от высыхания
- Ингибирование прорастания

morphogenesis

maturation

dormancy

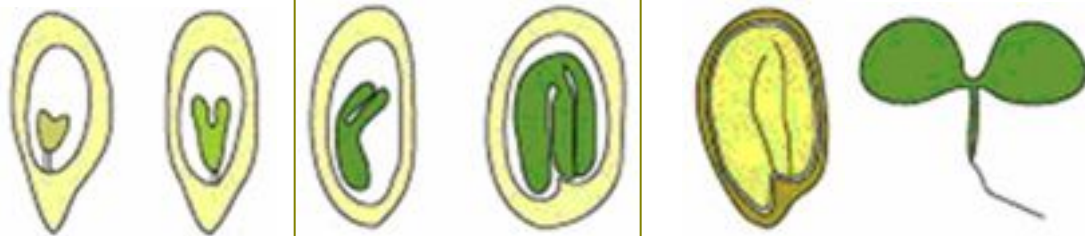
germination

mat

lea

Физиологические функции

АБК: Контроль  
созревания  
зародыша и  
периода покоя



АБК-  
зависимые  
процессы:

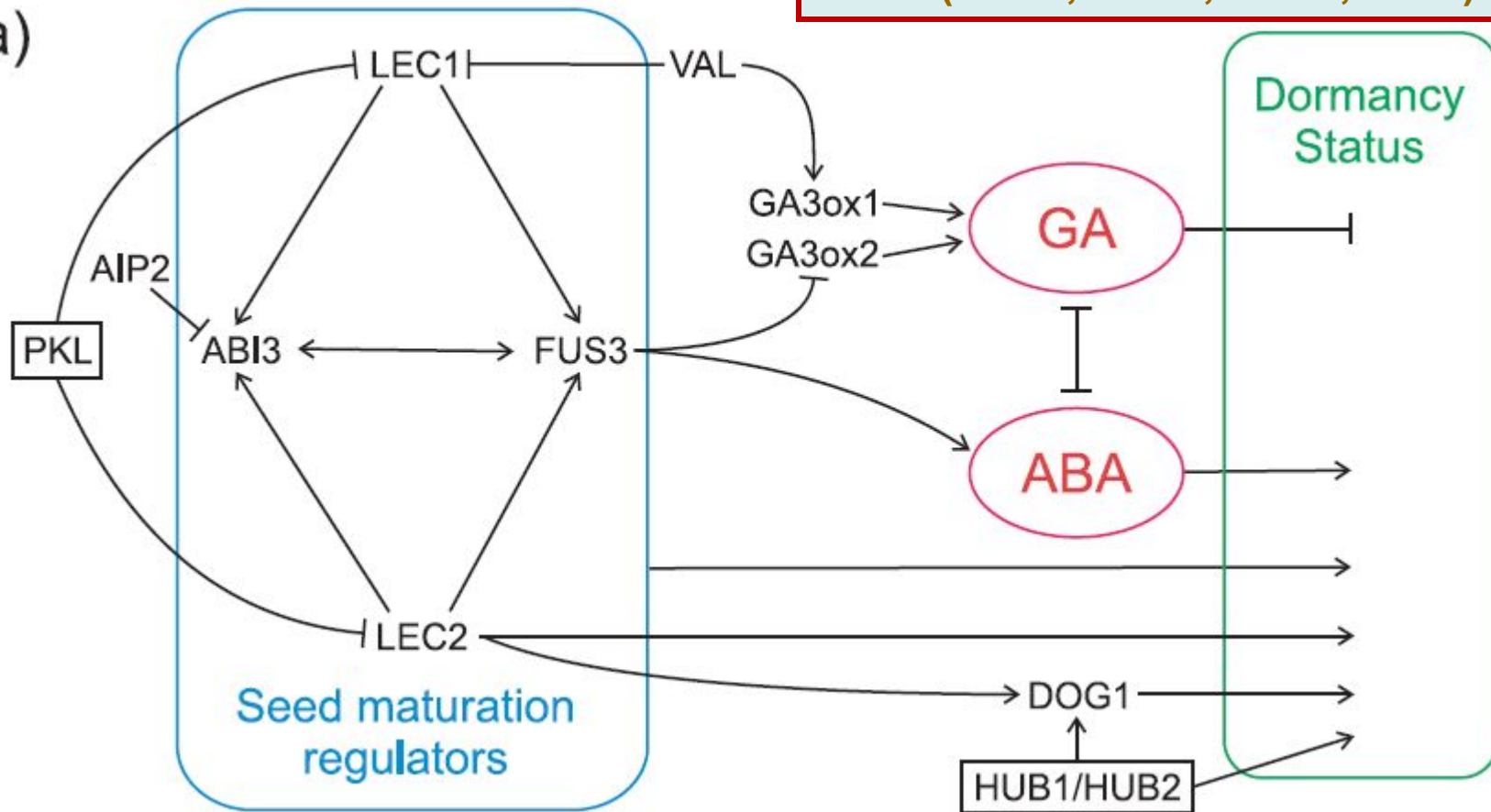
Накопление  
запасных  
белков

Накопление  
LEA белков

Репрессия  
метаболиз  
ма

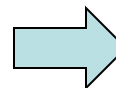
Механизм: Антагонизм ТФ  
LAFL (LEC1, LEC2, FUS3, ABI3) и VAL

(a)



# Основные регуляторы созревания семян:

1. LEC1 (LEafy Cotyledones 1)
2. LEC2 (LEafy Cotyledones 2), FUS3 (FUSCA 3), ABI3 (ABA-Insensitive 3)



«Гены созревания»  
(накопление запасных веществ, предотвращение высыхания)



Гены-репрессоры вегетативного развития (???)

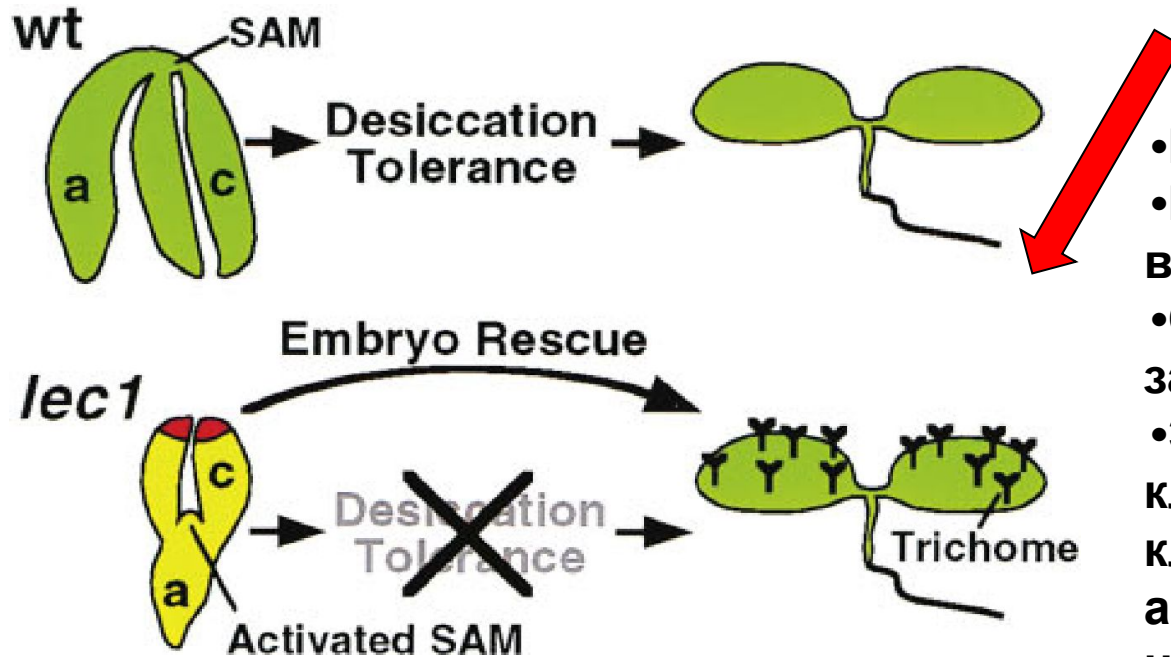


Гены-регуляторы всех стадий эмбриогенеза (???)



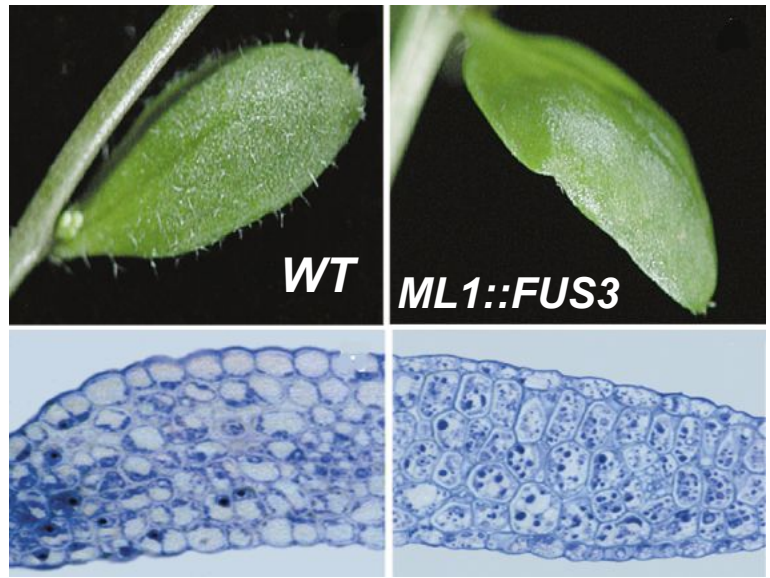
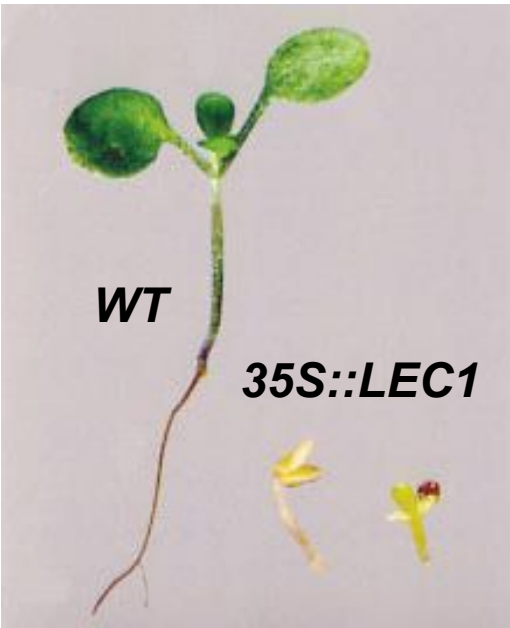
«Гены прорастания»

Характерные черты мутантов *lec*:



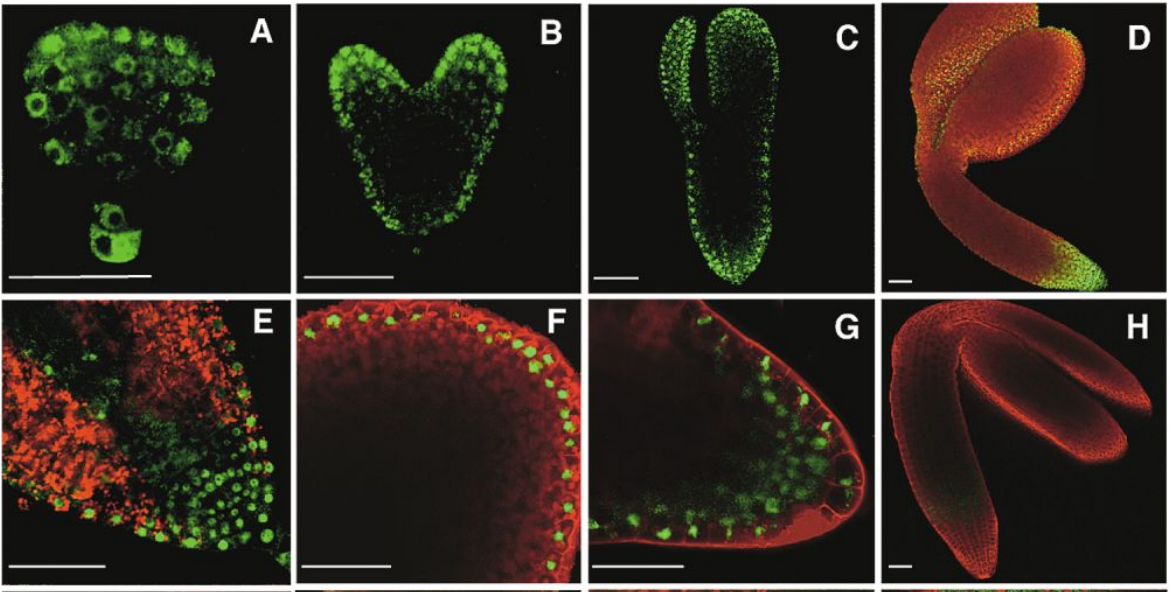
- Вивипария
- Неустойчивость к высыханию
- Снижение количества запасных веществ
- Эктопическое деление клеток (пролиферация клеток суспензора, активация ПАМ, трихомы на семядолях)





**Фенотипы растений со сверхэкспрессией генов *LEC1*, *LEC2* и *FUS3*:**

- Ювенильность
- Накопление питательных веществ



**Экспрессия конструкции *FUS3::GFP* на разных стадиях развития зародыша**

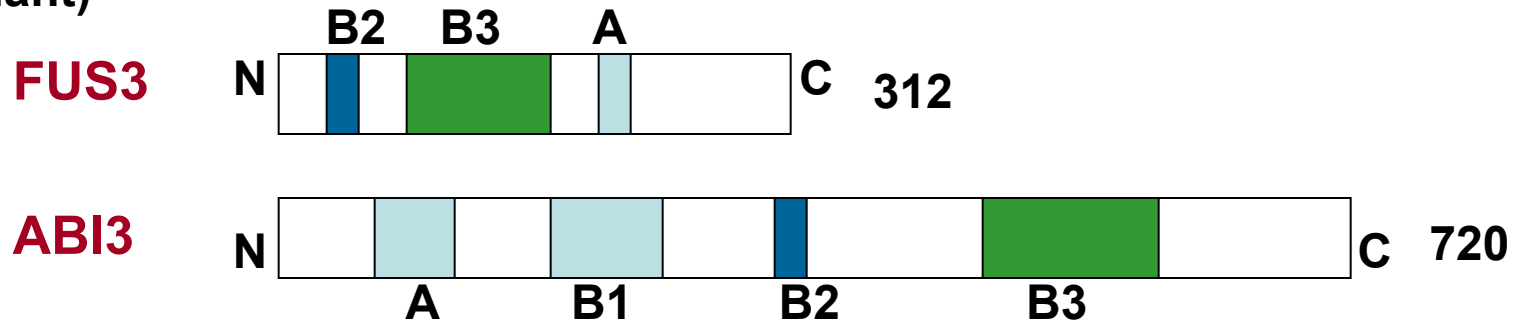
**(у *LEC1* и *LEC2* - сходный характер экспрессии)**

• **LEC2, ABI3 и FUS3** – ТФ с В3 доменом

• Относятся к той же группе, что транскрипционный фактор **ABI3** (АБК-зависимый)

• ДНК-связывающий В3 домен взаимодействует с RY-мотивом в промоторах некоторых генов

• Мишени – гены SSP (Seed Storage Proteins): олеозин, глобулин 12S (круциферин), альбумин 2S), гены дегидринов LEA (Late Embryogenesis Abundant)

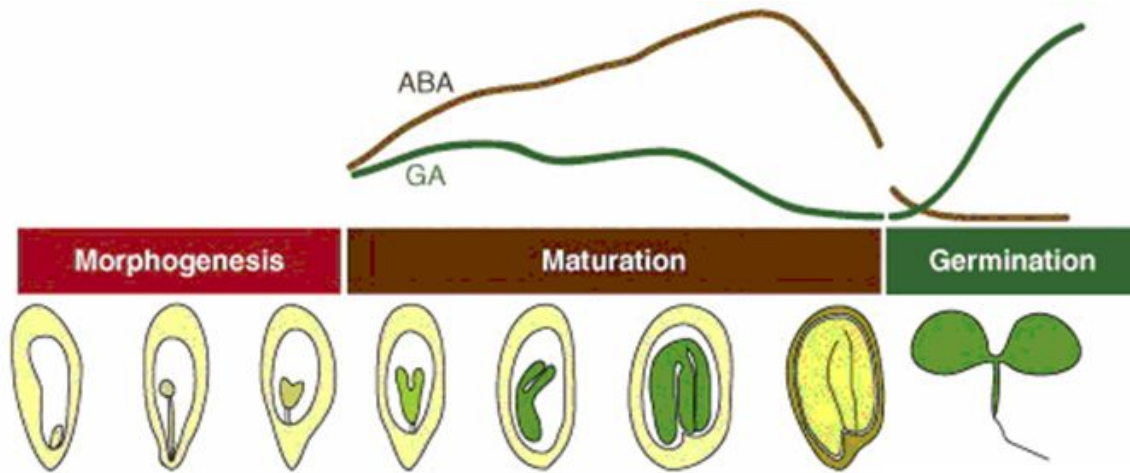


• **LEC1** – НАР3-субъединица ССААТ-бок-связывающего ТФ (CBF)

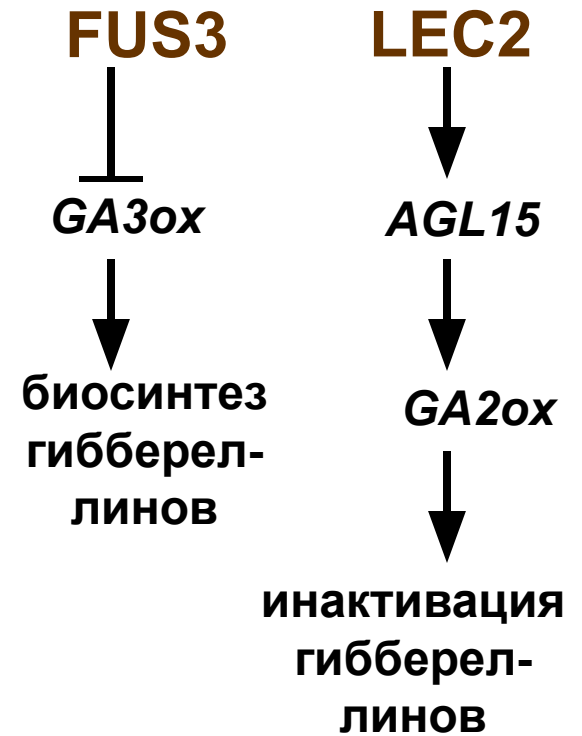
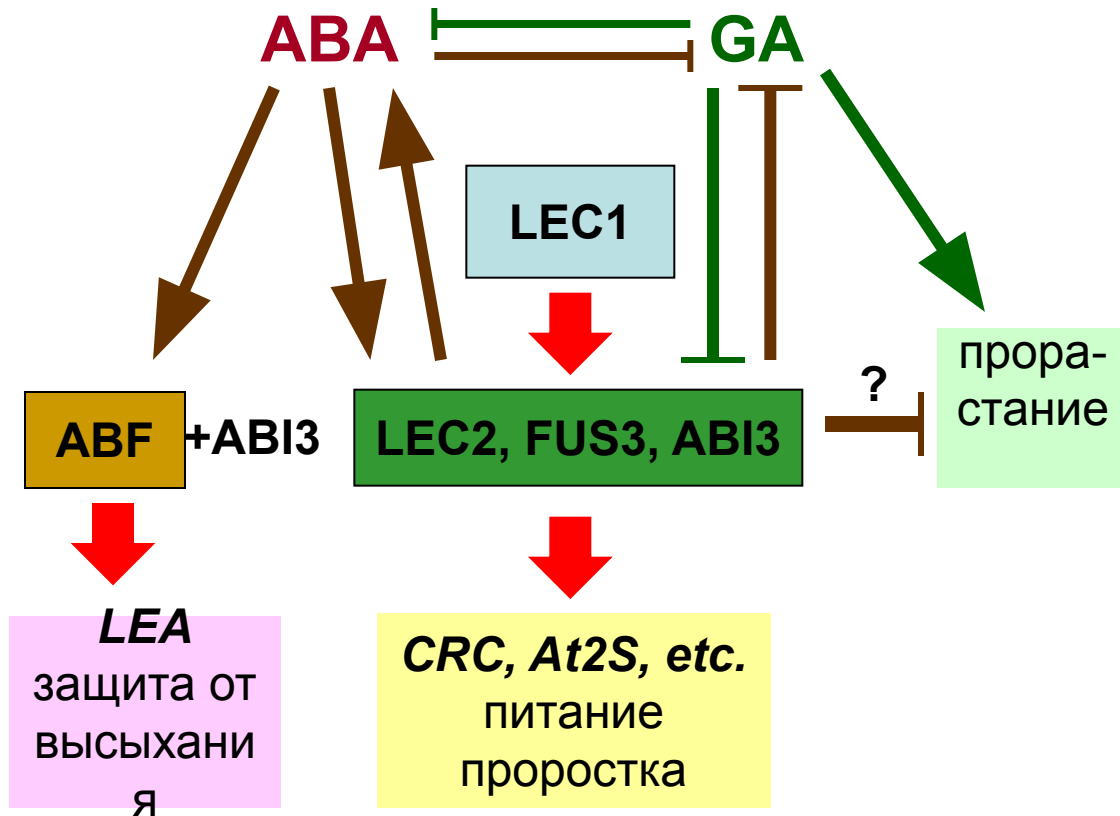
• Консервативный ДНК-связывающий В-домен имеет высокую гомологию с белками НАР3 всех эукариот

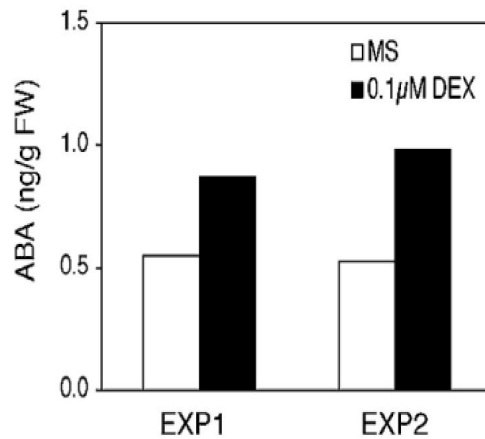
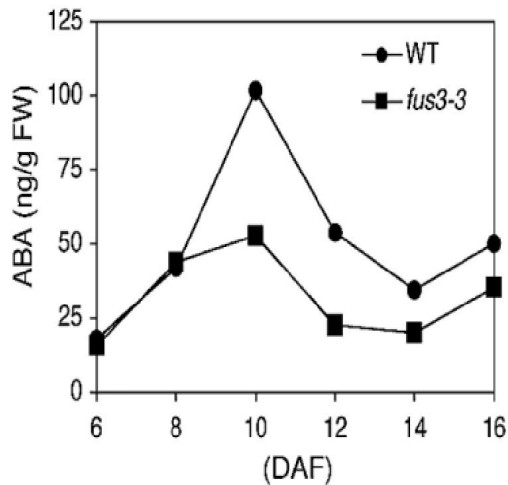
• Действует раньше LEC2, FUS3 и ABI3, позитивно регулируя экспрессию их генов



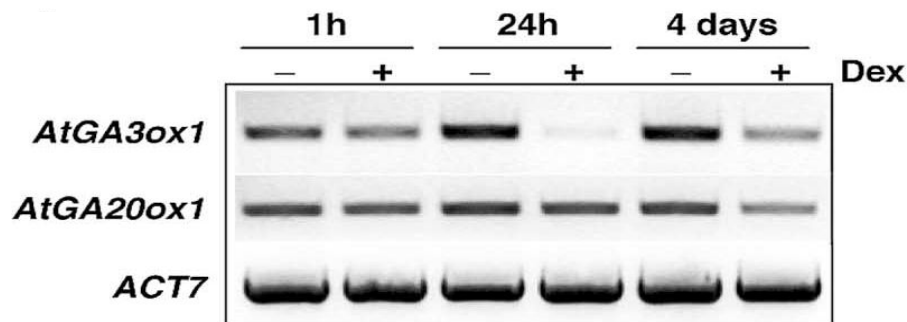


# Взаимодействие LEC генов с абсцизовой кислотой и гиббереллинами

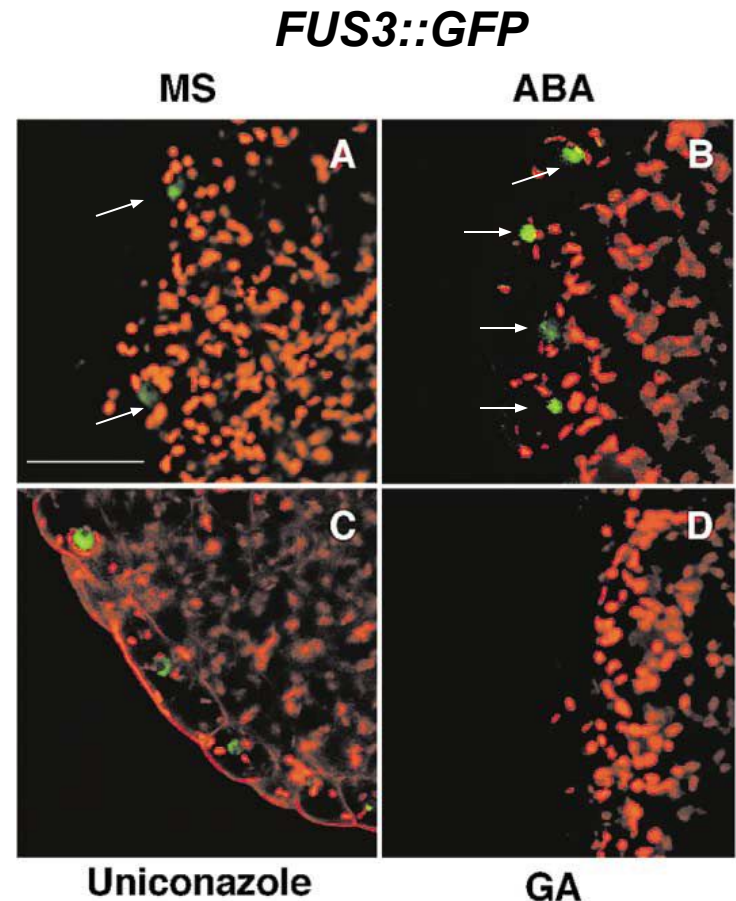




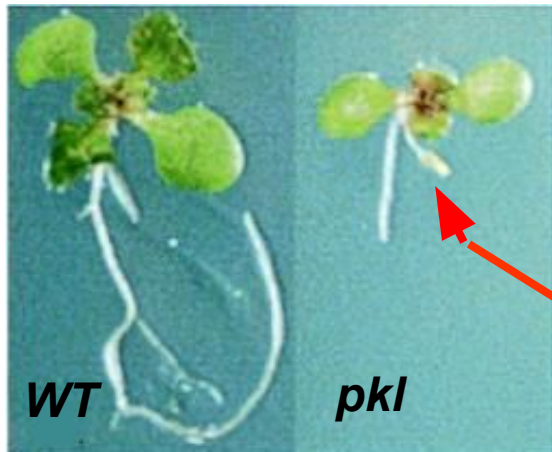
**FUS3** позитивно регулирует биосинтез АБК и негативно – биосинтез ГК (через регуляцию экспрессии гена *Ga3ox1*)



Стабильность белка FUS3 позитивно регулируется АБК и негативно - гиббереллинами

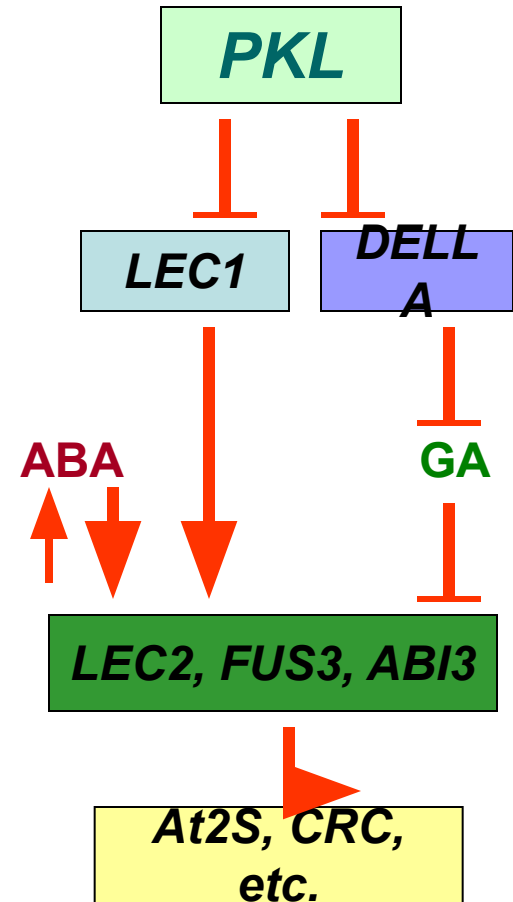


# Антагонист *LEC* генов - *PICKLE* (*PKL*)

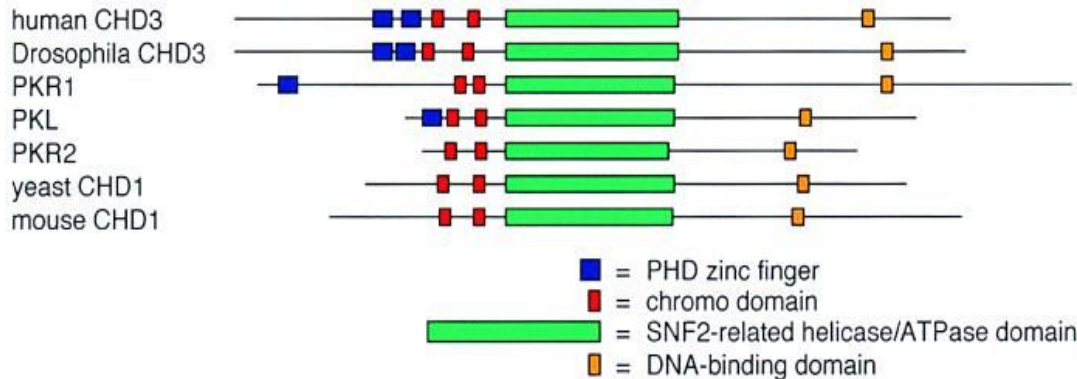


ювенильный фенотип

накопление запасных белков в корне



Продукт гена – фактор ремоделинга хроматина из семейства CHD3



- Сверхэкспрессия гена *LEC2* вызывает спонтанный соматический эмбриогенез в культуре тканей и на листьях интактных растений



**Вывод:**

**ген *LEC2* запускает программу  
морфогенеза зародыша**

# Транскрипционные факторы LAFL и VAL

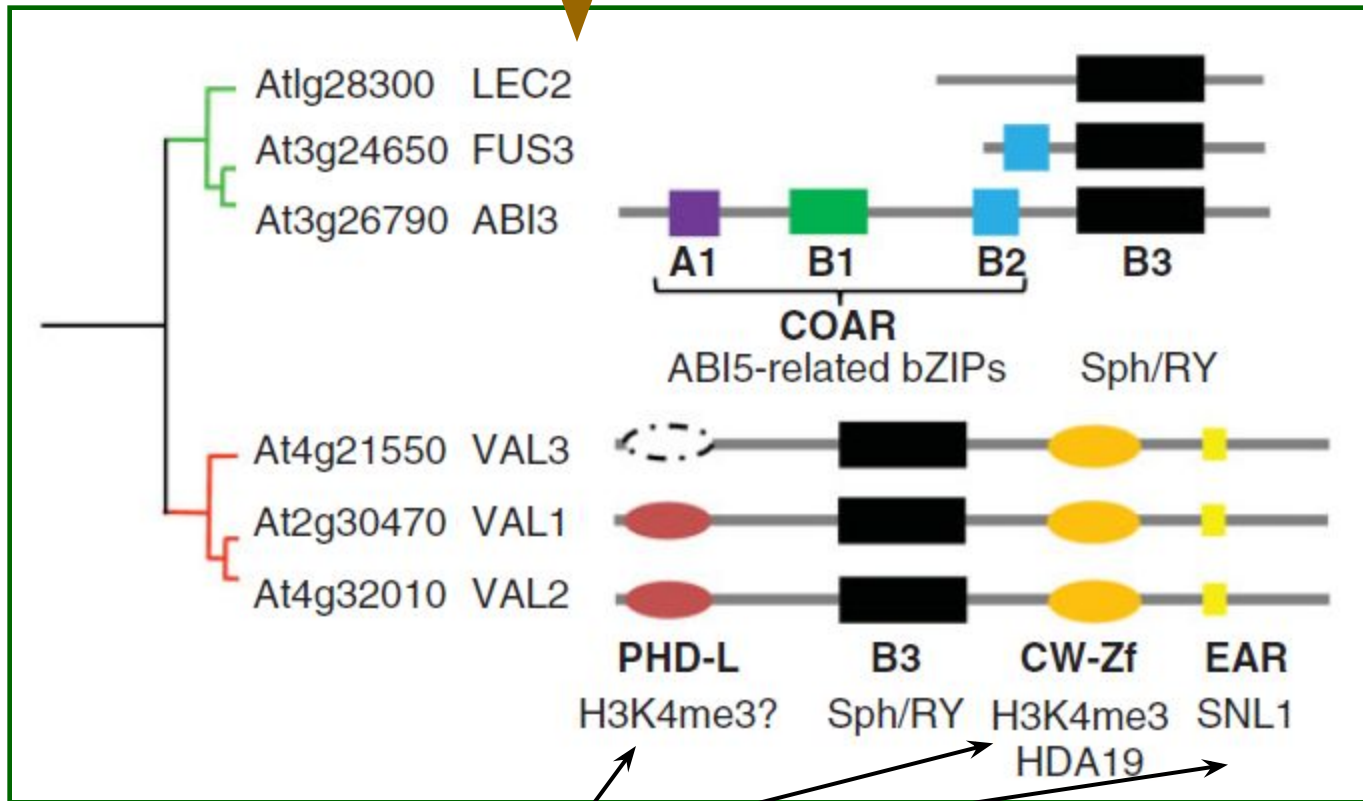
**LEC1** – ТФ с NAR3 доменом, регулирует экспрессию генов **LEC2, FUS3, ABI3**

**LEC1**



**ABI3, FUS3, LEC2** и **VAL1-3** – ТФ с B3 доменом (их гены-мишени имеют в промоторе последовательность RY)

**ABI3** имеет также домены COAR (coactivator) для связывания bZIP ТФ ABI5



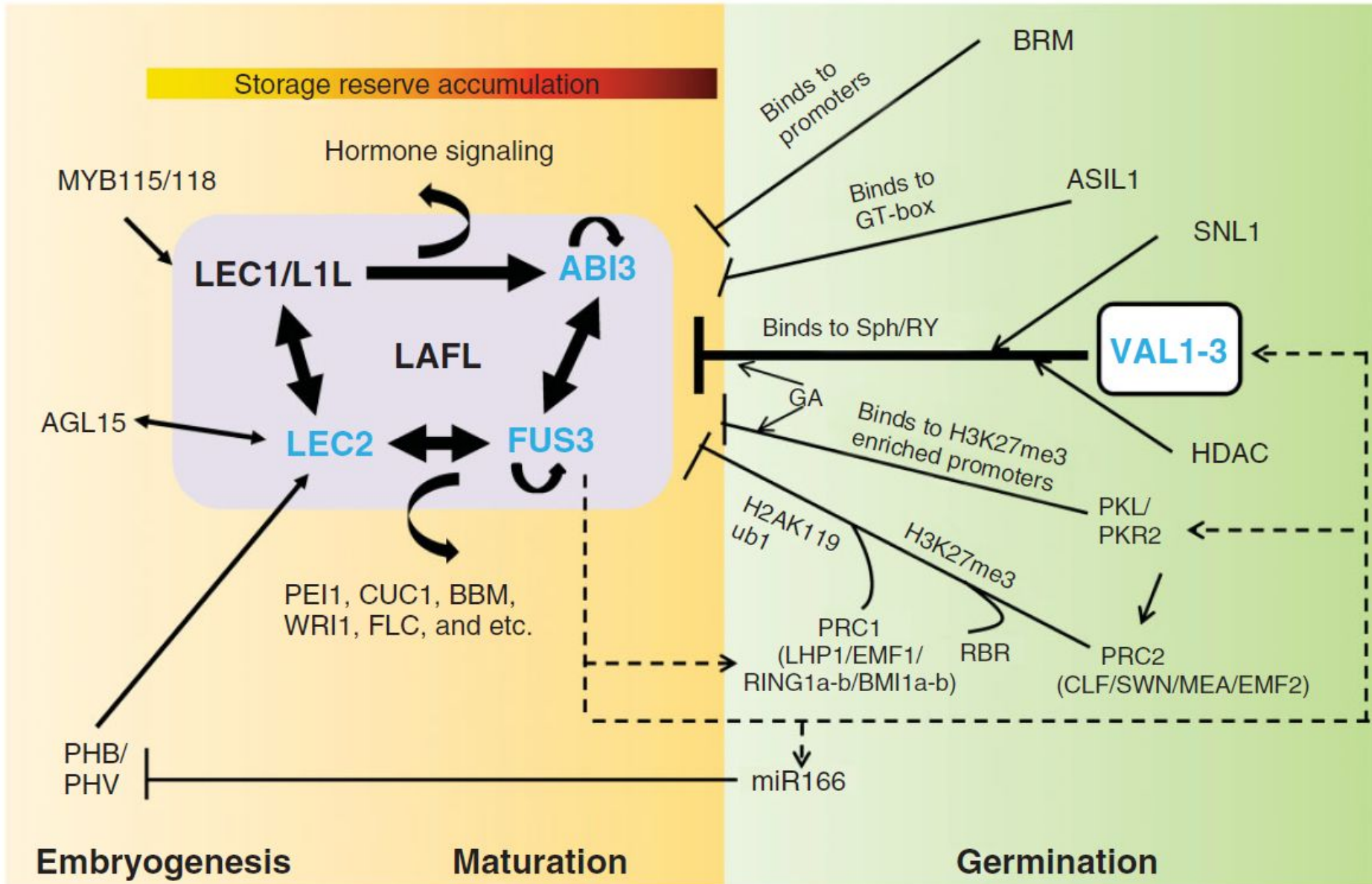
## Мишени LAFLs:

1. Гены SSP (Seed Storage Proteins)
2. Гены LEA (Late Embryogenesis Abundant)
3. Гены, контролирующие биосинтез липидов
4. Гены гормонального сигналинга
5. Мишени FUS3 – также гены ТФ морфогенеза *CUC1*, *BBM*, *WR11* и ген-репрессор цветения *FLC*

Связывающиеся с VAL метилазы и деацетилазы гистонов и корепрессоры

**VAL1-3** имеют домены, характерные для репрессоров транскрипции

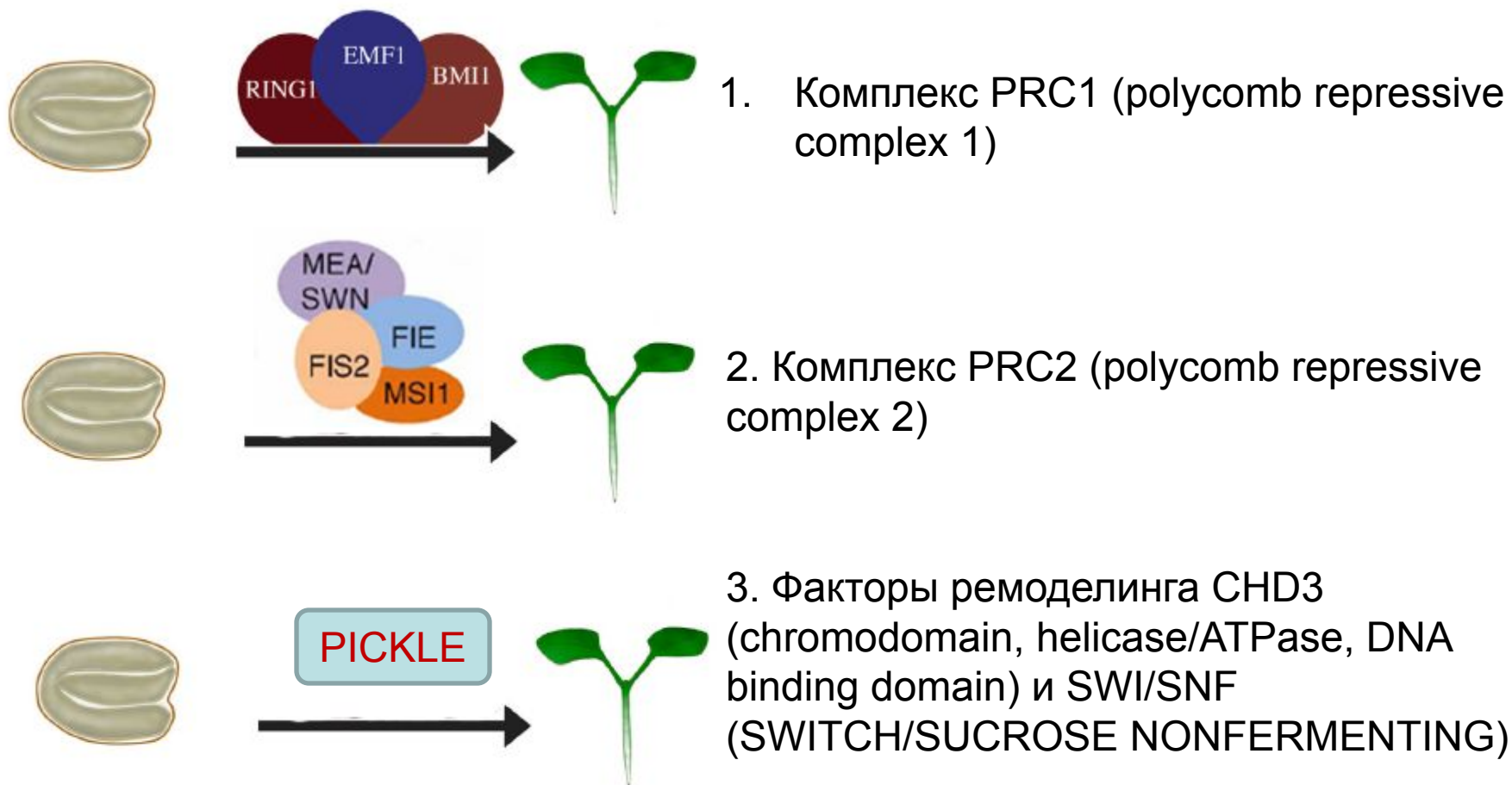
# Физиологические функции АБК: Контроль созревания зародыша и периода покоя





# Эпигенетические механизмы контроля созревания зародыша и прорастания:

Подавление экспрессии генов, кодирующих ТФ группы LAFL



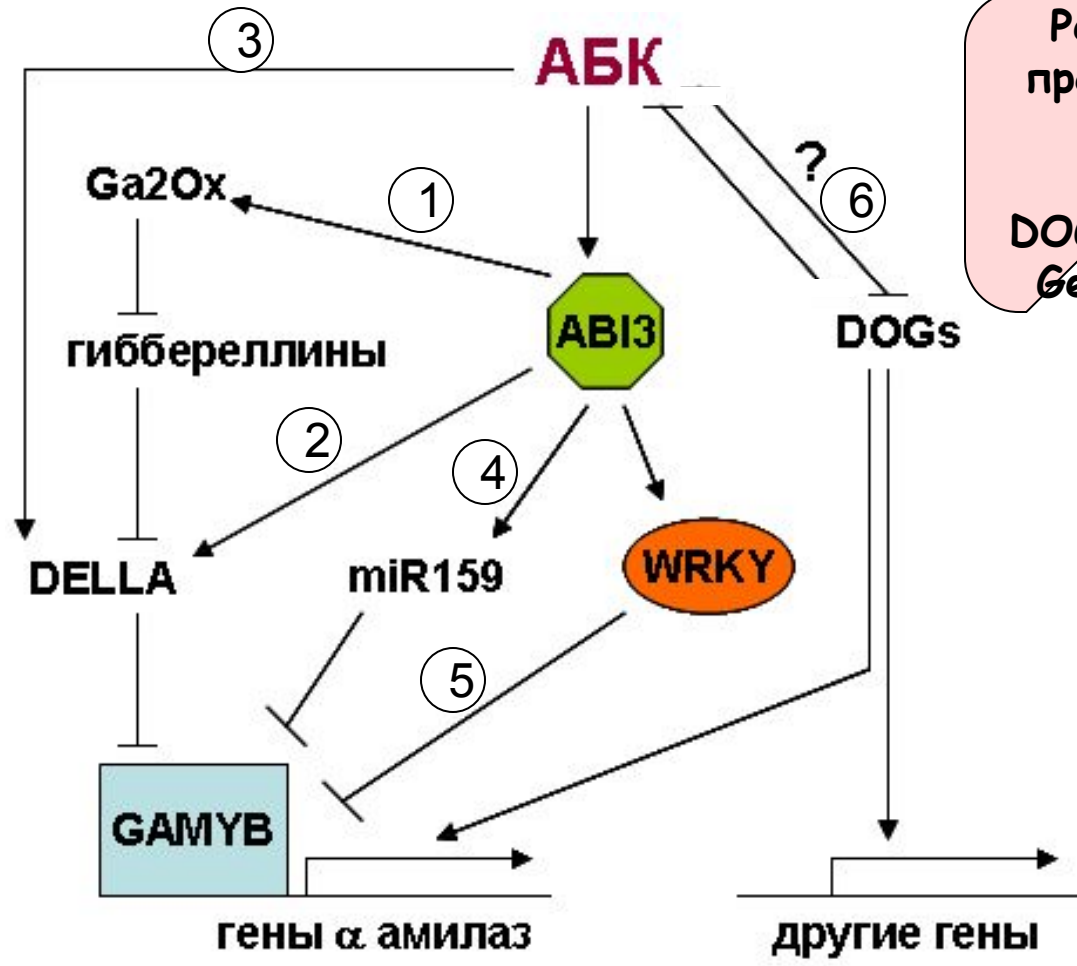
до прорастания



# Физиологические функции АБК: **Контроль** периода покоя семян

Репрессия  
гиббереллин-  
зависимого  
прорастания:  
**1-5**

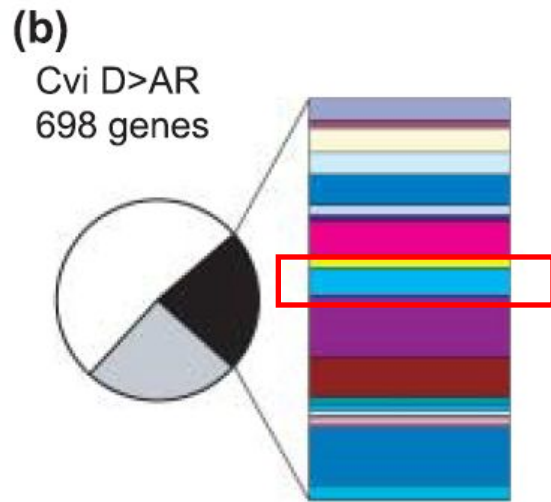
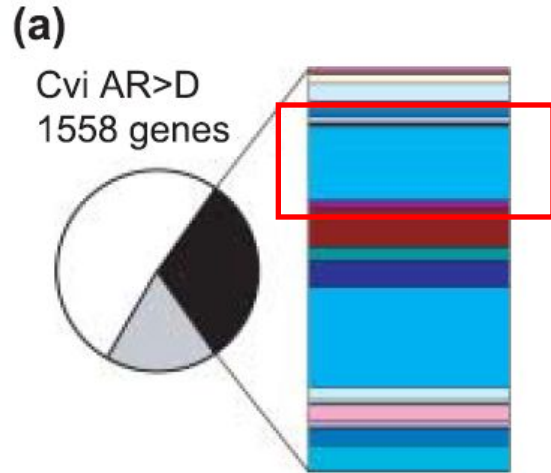
Репрессия  
процессинга  
РНК:  
**6**  
DOG=Delay of  
Germination



гены α амилаз

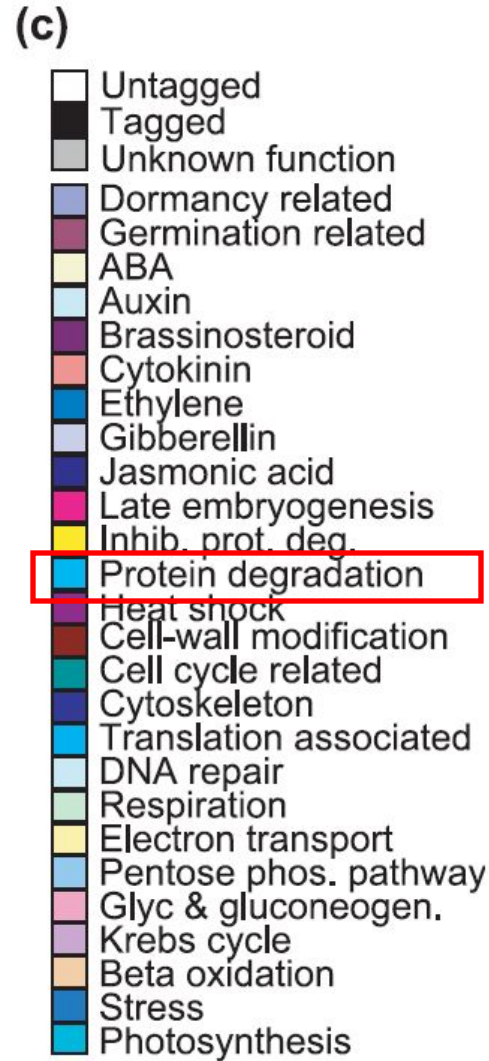
другие гены

## Dormant seeds



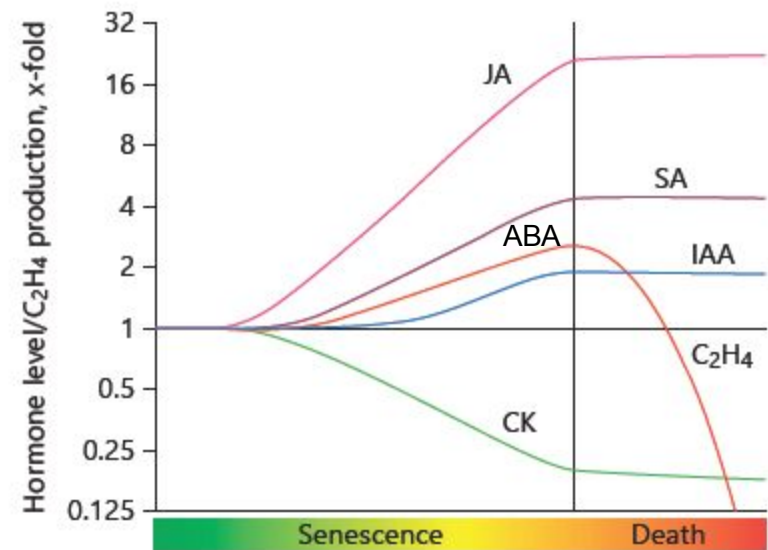
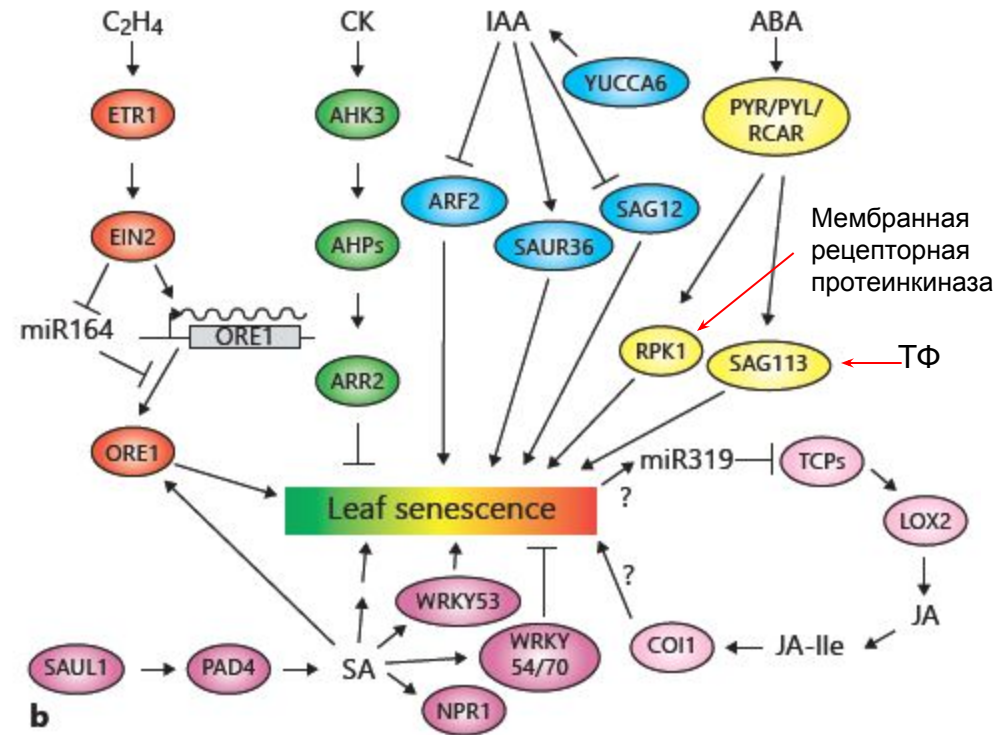
After-ripening seeds

## Functional Groups of genes

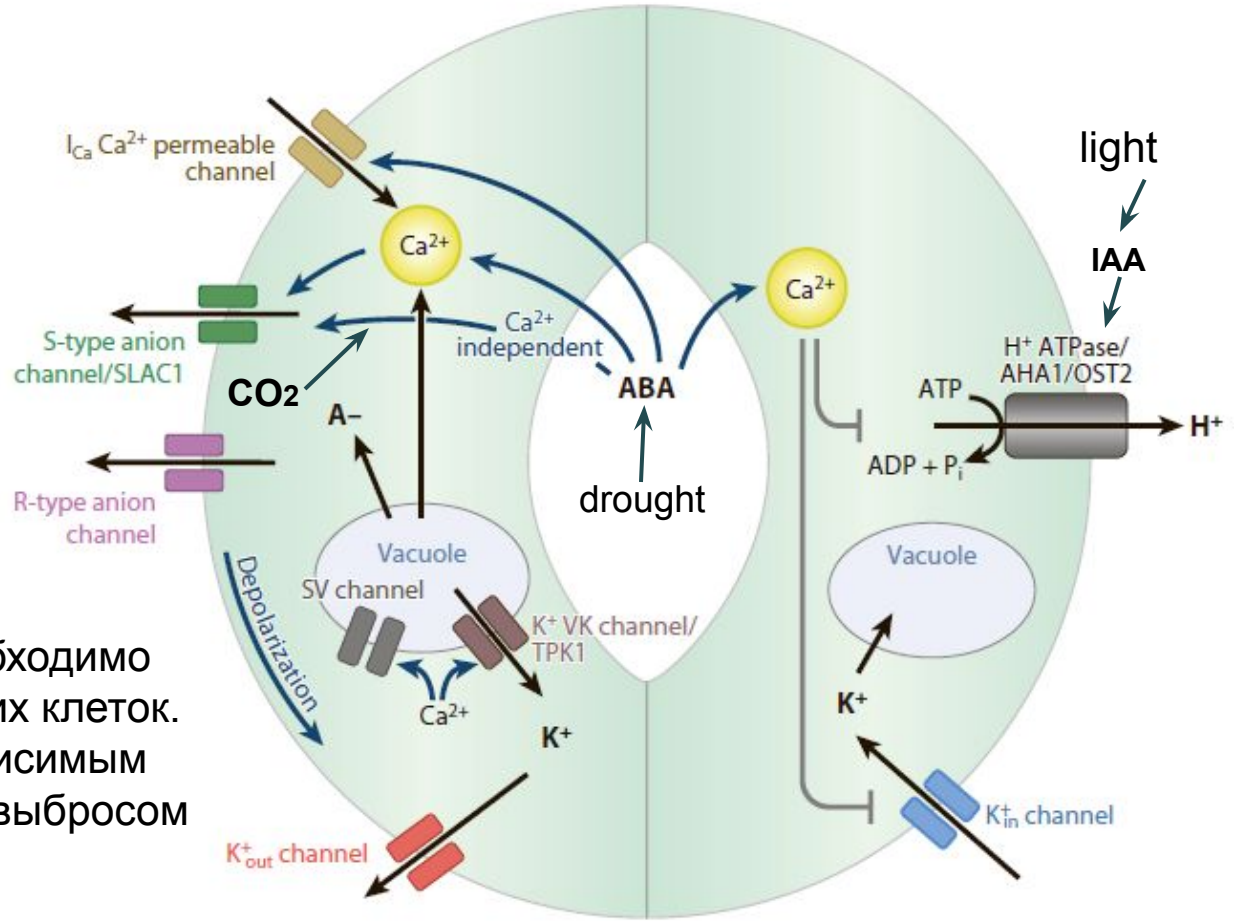


Физиологические  
функции АБК:  
**Контроль**  
периода покоя  
семян и  
старения

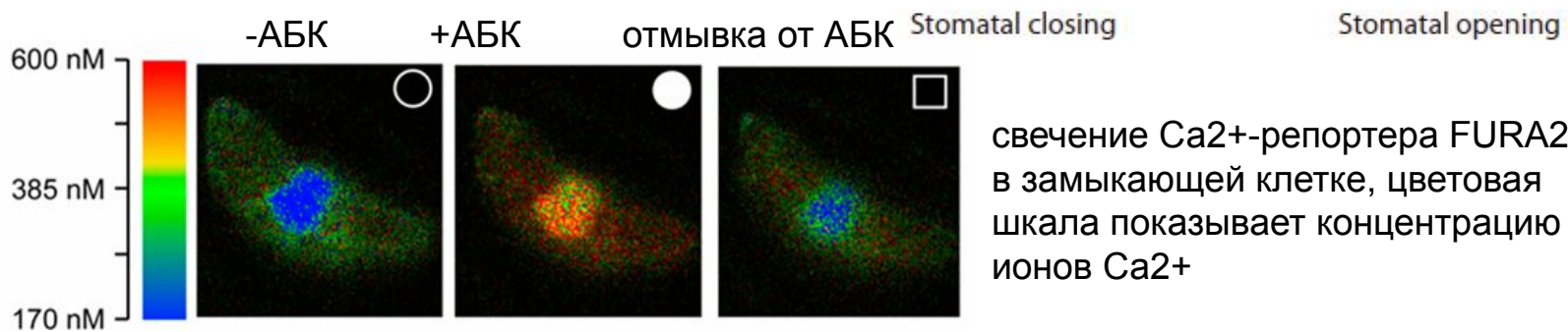
# Взаимодействие гормонов в контроле старения листьев



# Физиологические функции АБК: Контроль замыкания устьиц



Для закрывания устьиц необходимо снижение тургора замыкающих клеток. Механизм связан с АБК-зависимым входом ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетку и выбросом анионов и ионов  $\text{K}^+$ .



свечение  $\text{Ca}^{2+}$ -репортера FURA2 в замыкающей клетке, цветовая шкала показывает концентрацию ионов  $\text{Ca}^{2+}$

# Физиологические функции АБК: Контроль замыкания устьиц

## В отсутствии АБК

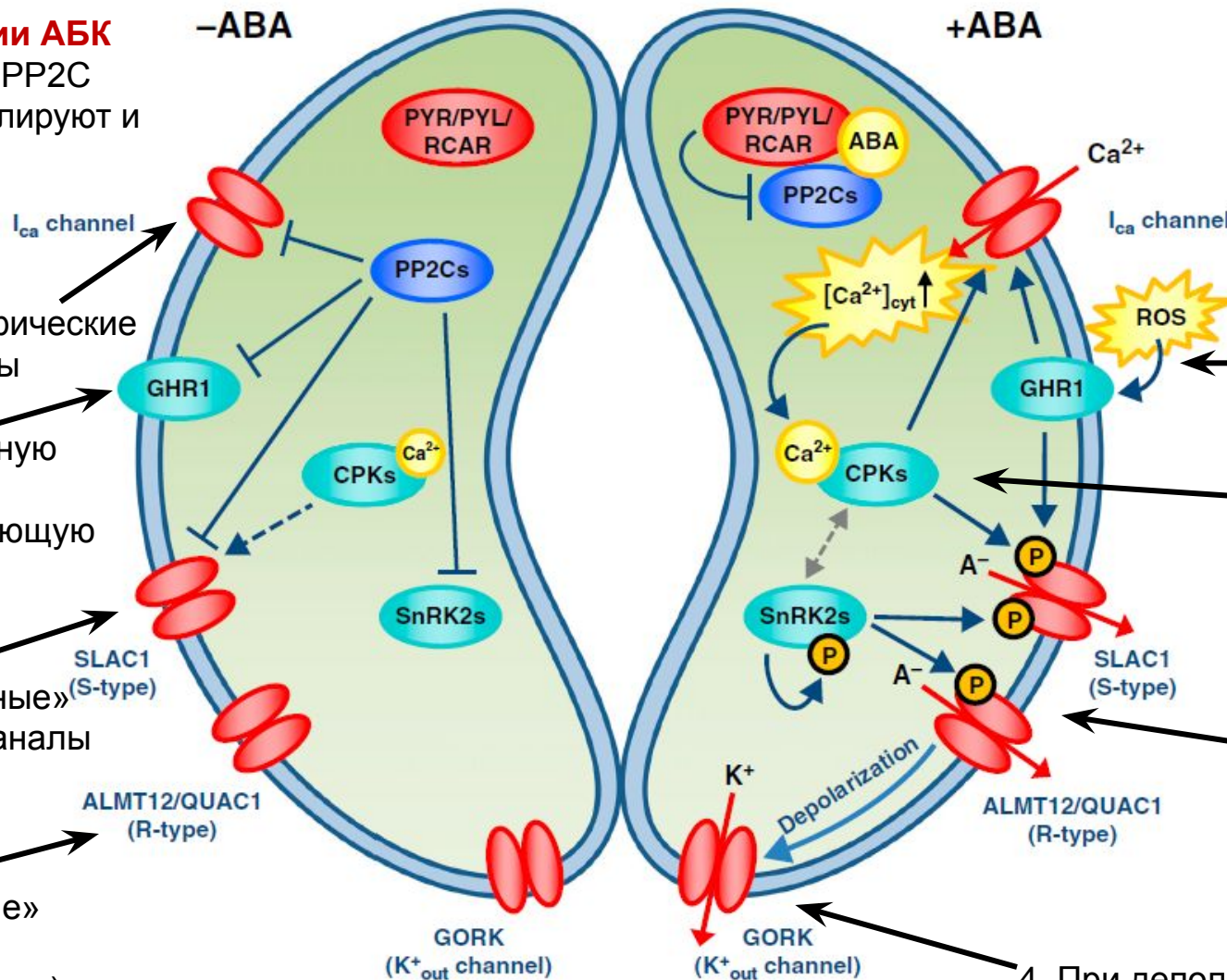
фосфатазы PP2C дефосфорилируют и ингибируют:

1. Неспецифические Ca<sup>2+</sup> каналы

2. Рецепторную киназу, воспринимающую ROS

3. «Медленные» анионные каналы (S-тип)

4. «Быстрые» анионные каналы (R-тип)



## В присутствии АБК:

1. ROS активируют GHR  
 □ GHR фосфорилирует и активирует Ca<sup>2+</sup> каналы и анионные каналы

2. Ca-зависимые киназы фосфорилируют и активируют анионные каналы

3. Киназы SnRK2 фосфорилируют и активируют анионные каналы

4. При деполяризации мембраны запускаются K<sup>+</sup> каналы