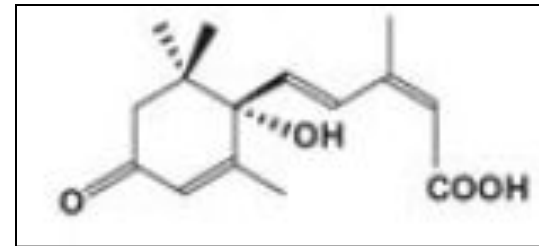


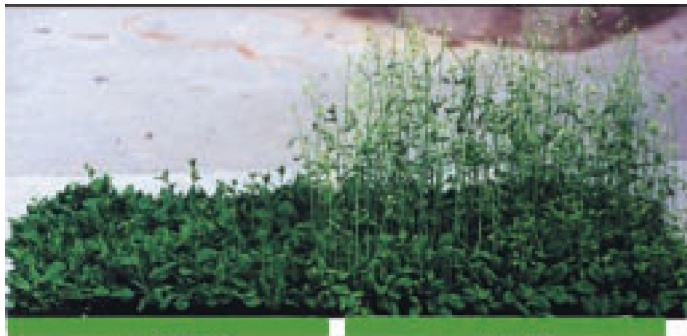
Абсцизовая кислота (АБК)

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



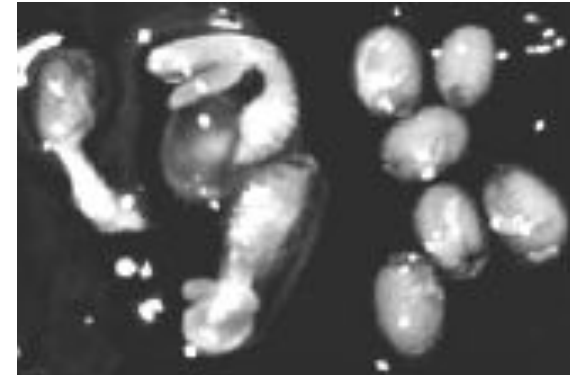
+ АБК

- АБК



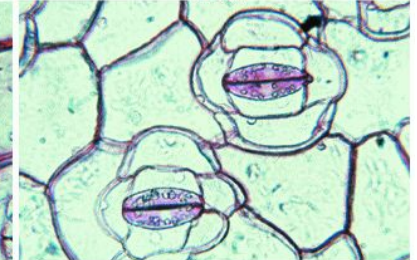
- АБК

+АБК



- АБК

+ АБК

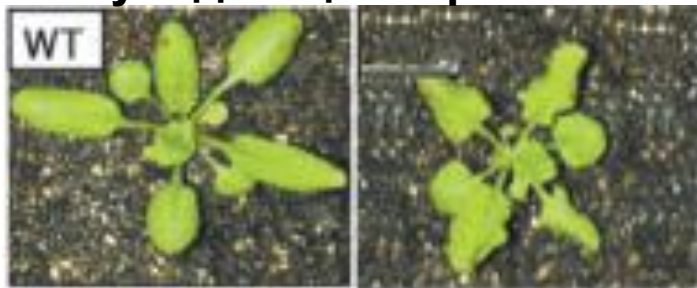


Фенотипы мутантов по АБК

вивипария



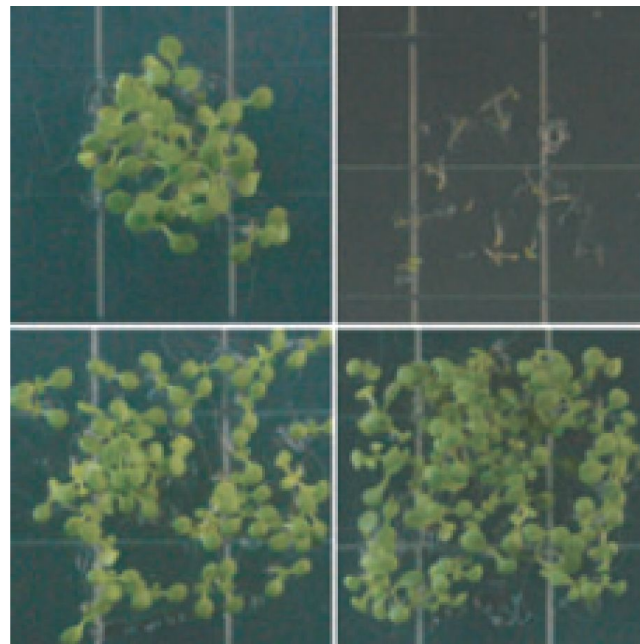
«увядающий» фенотип



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

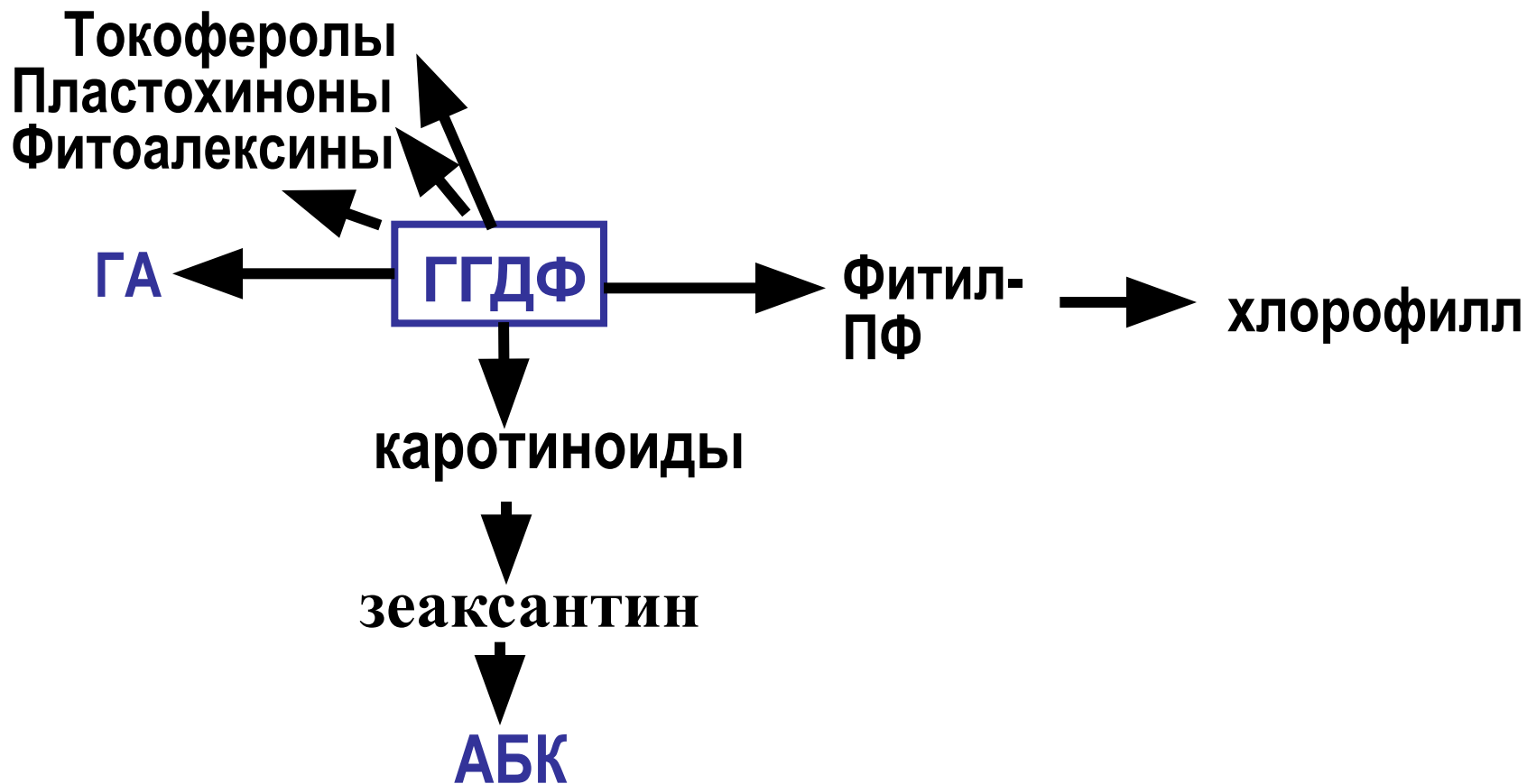
Нечувствительность к высоким
концентрациям АБК

1 μ M
АВА



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

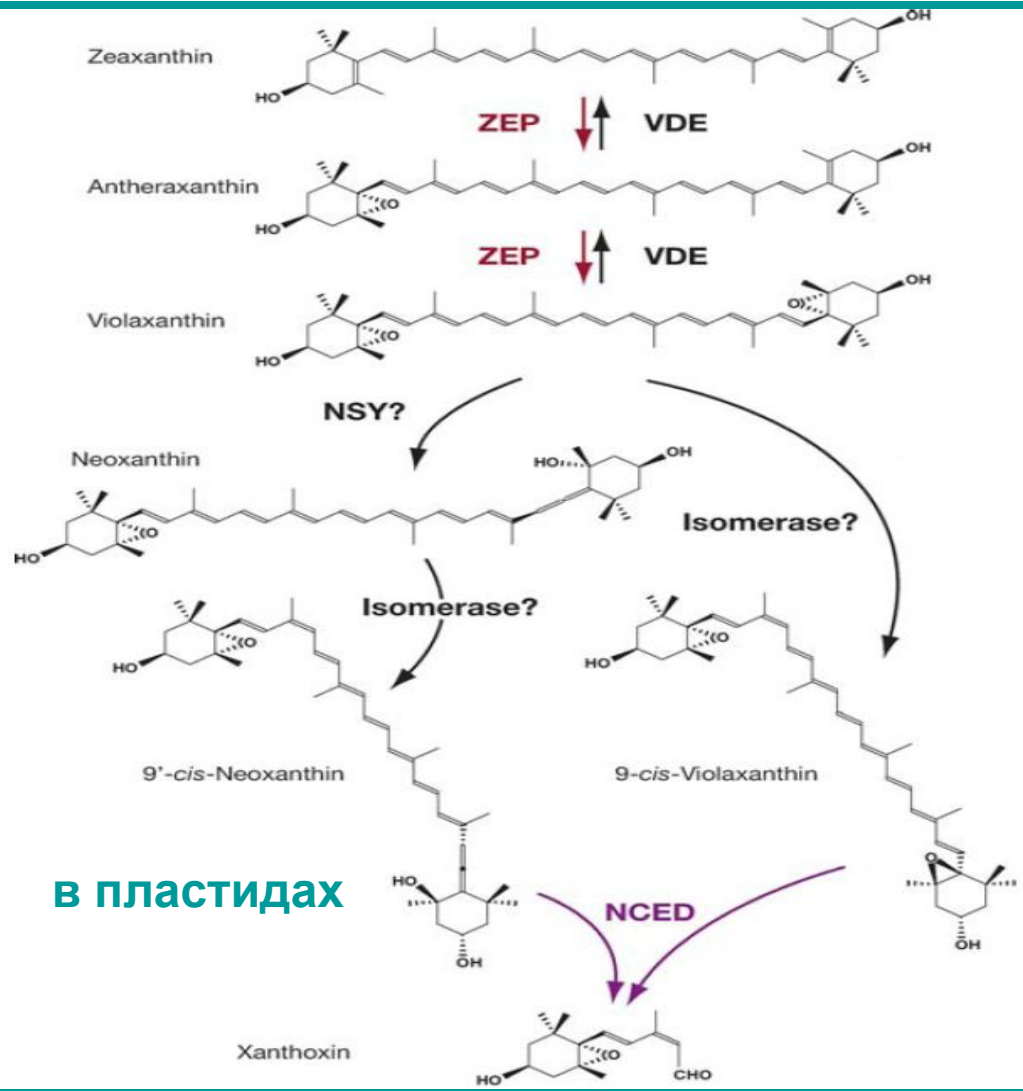
Связь биосинтеза гиббереллинов и АБК



Биосинтез АБК

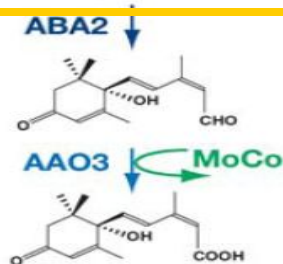
Основные ферменты:

1. зеаксантин-эпоксидазы (**ZEP**) - синтез виолоксантина из зеаксантина
2. ликопен-циклазы- β (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



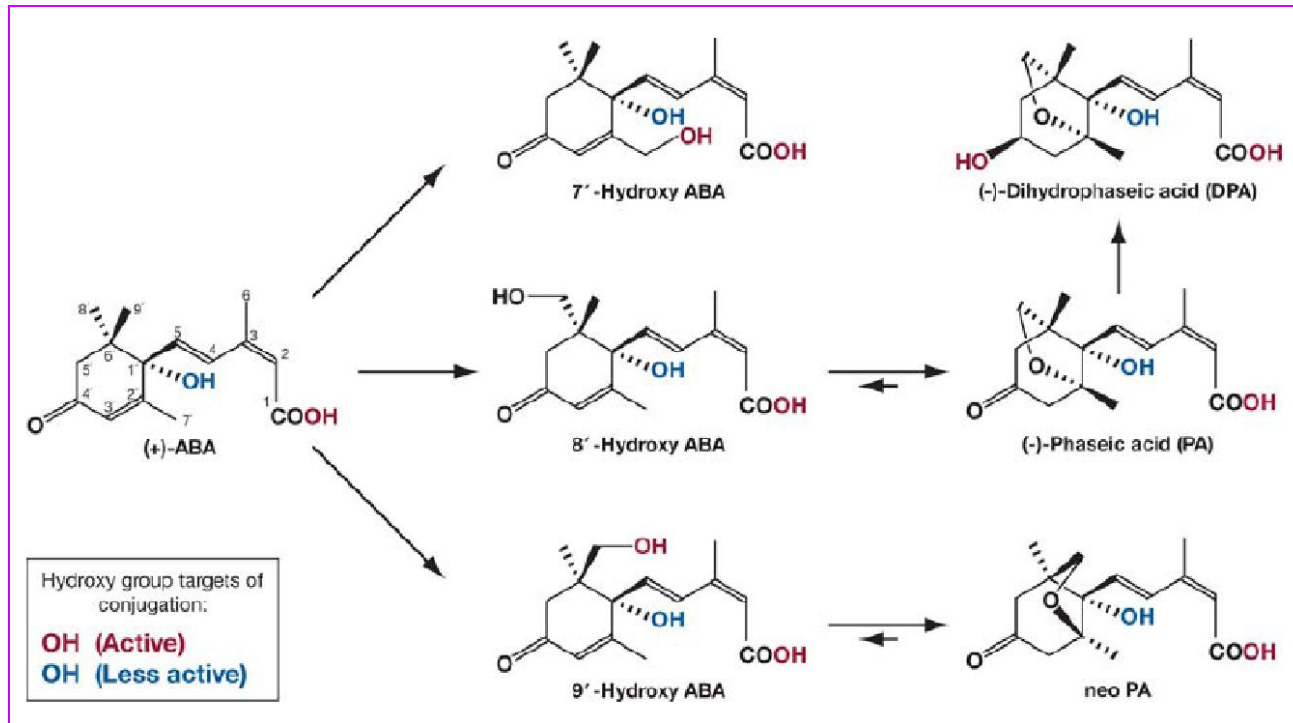
в цитозоле

Abscisic aldehyde

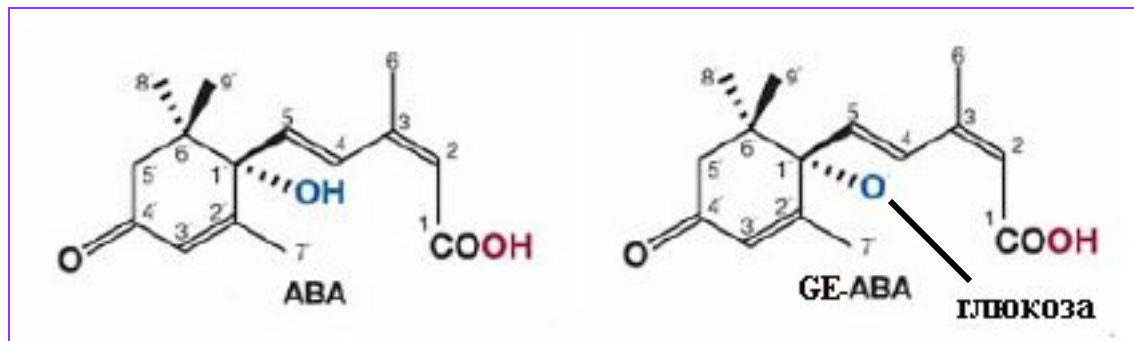


Инактивация АБК:

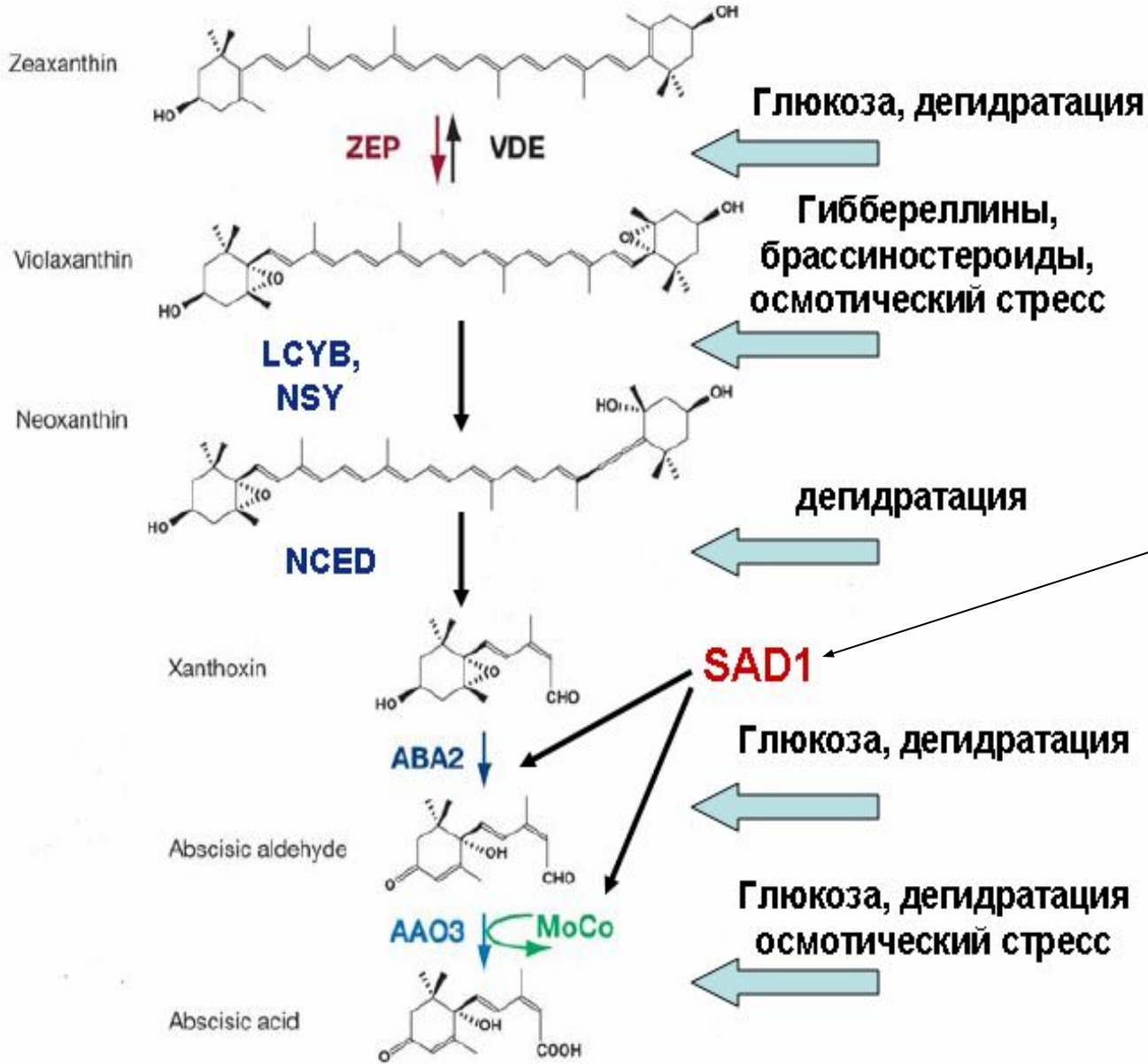
1. 7-, 8- и 9-гидроксилирование



2. Гликозилирование по гидроксильной группе С1



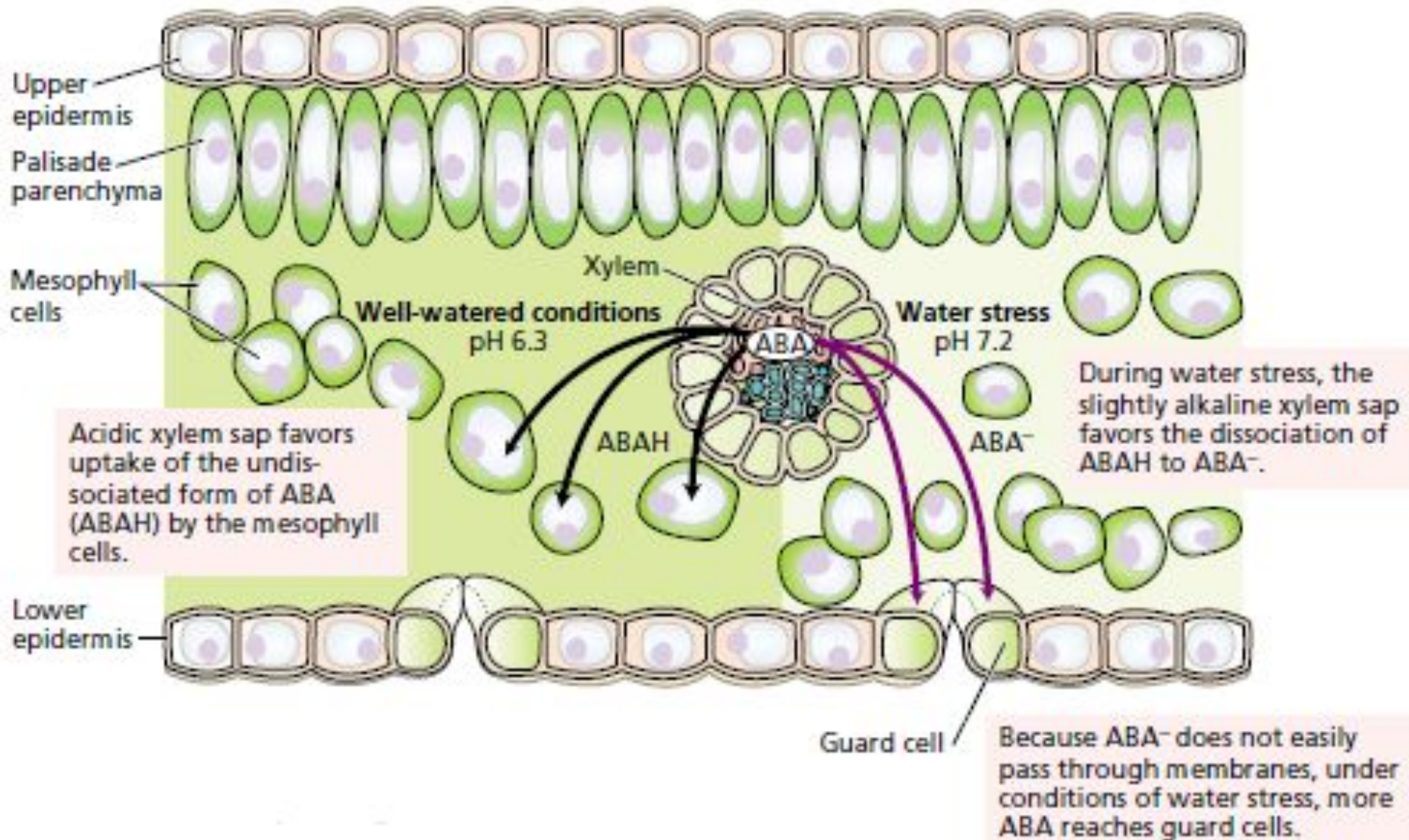
Регуляция экспрессии генов биосинтеза АБК



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

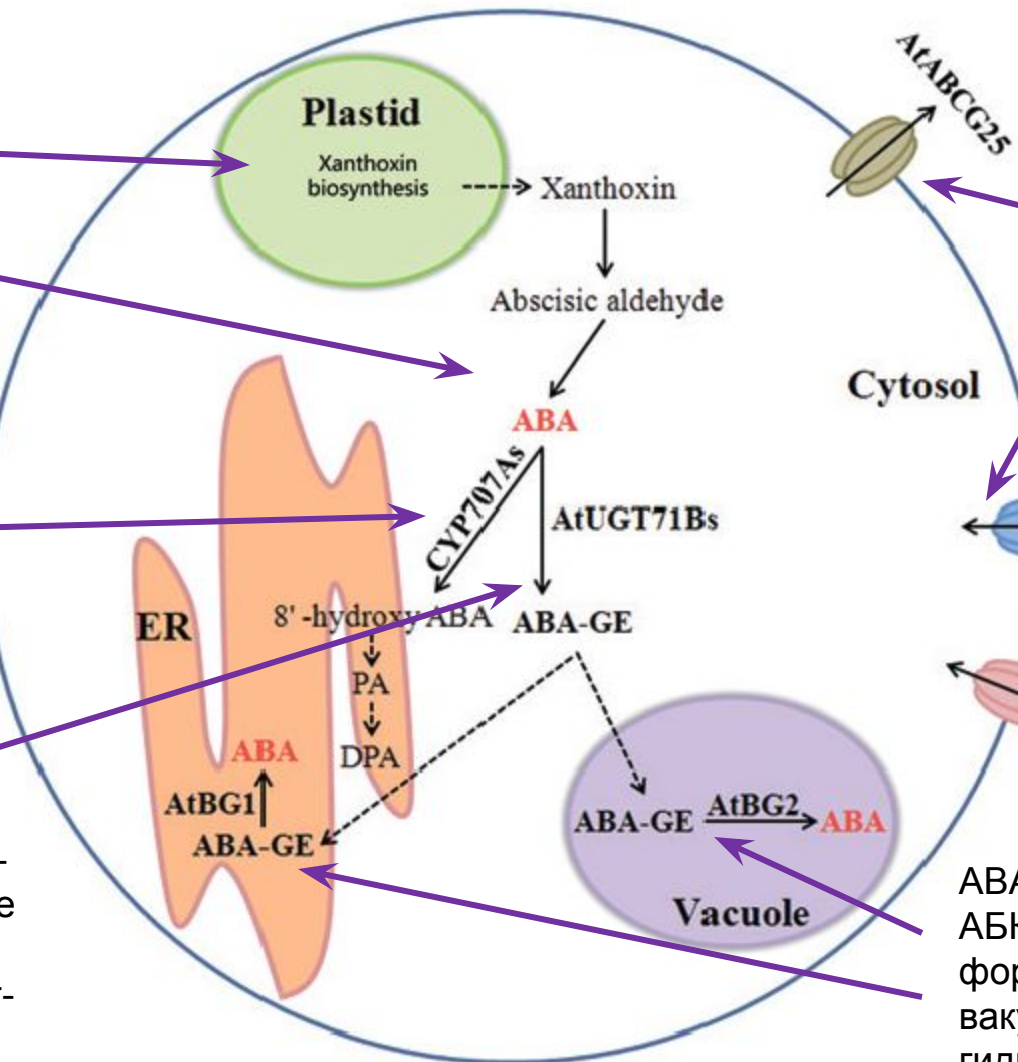
Транспортные белки семейства ATP-binding cassette (ABC-transporters):

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

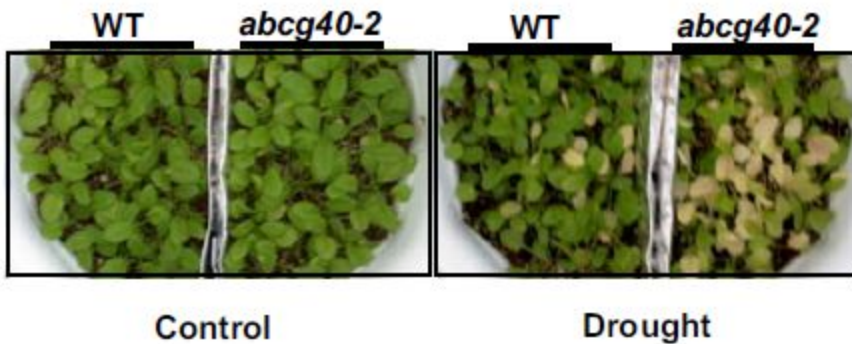
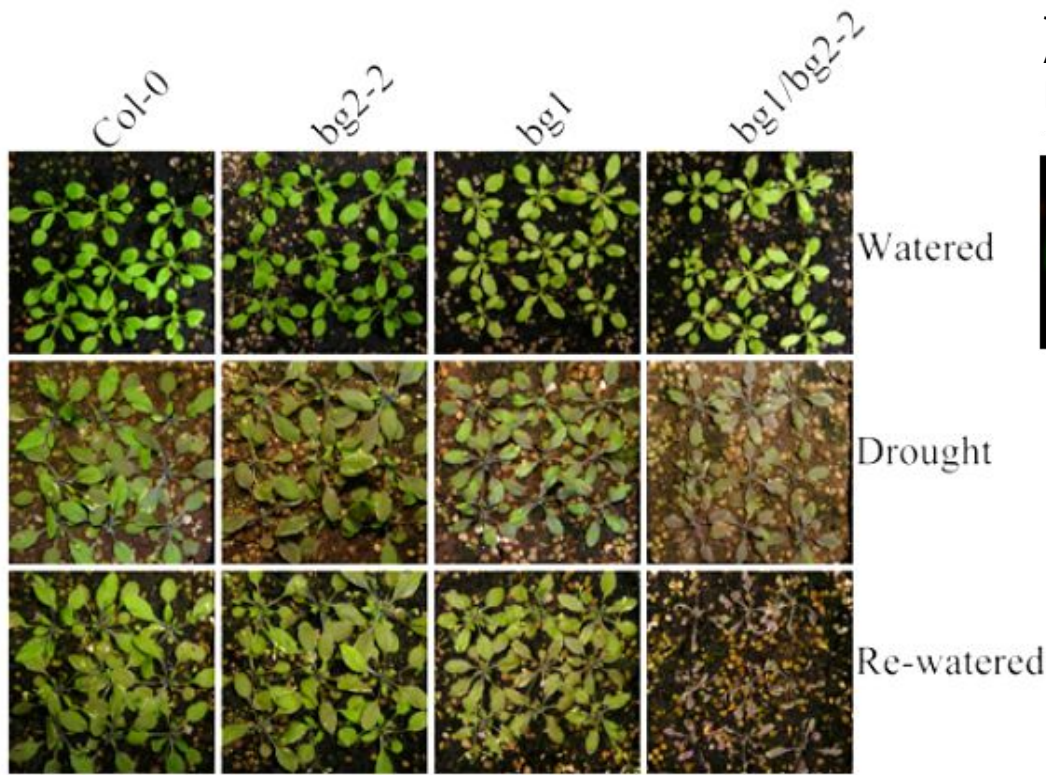
Нитратный транспортер

АТ1/NRT1 – еще один импортер АБК

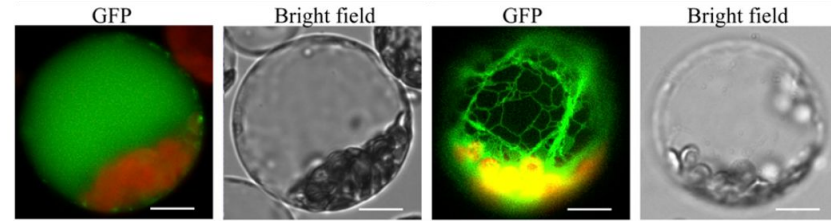
АВА-ГЕ – глюкозильный эфир АБК, основная запасная форма, накапливается в вакуолях и ЭР, при стрессе – гидролизуется β глюкозидазами (AtBG)



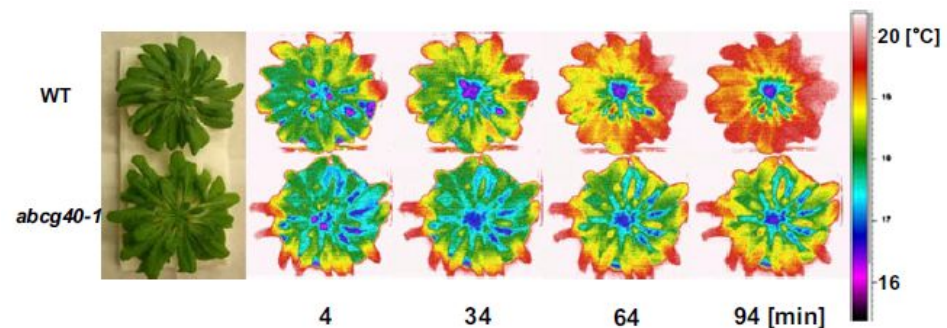
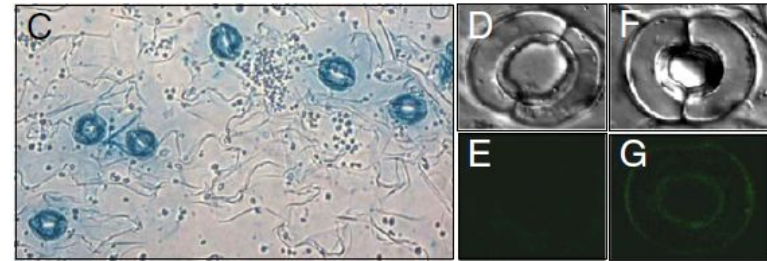
Мутанты с нарушением метаболизма и транспорта АБК: не выдерживают засухи



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

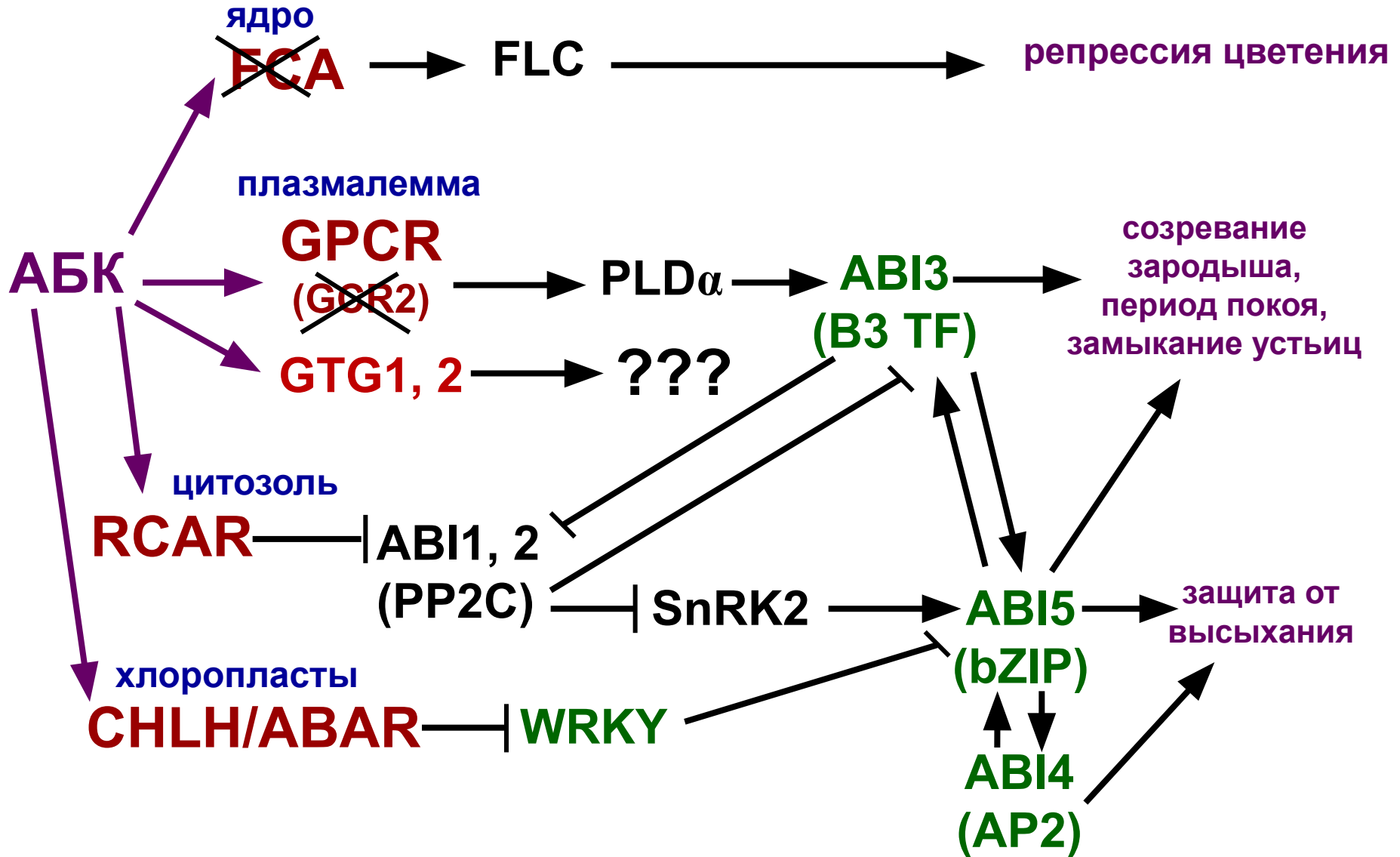


Локализация импортера АБК ABCG40 в замыкающих клетках устьиц



Задержка роста температуры тканей при подаче АБК у мутанта по транспорту

Рецепция и передача сигнала АБК



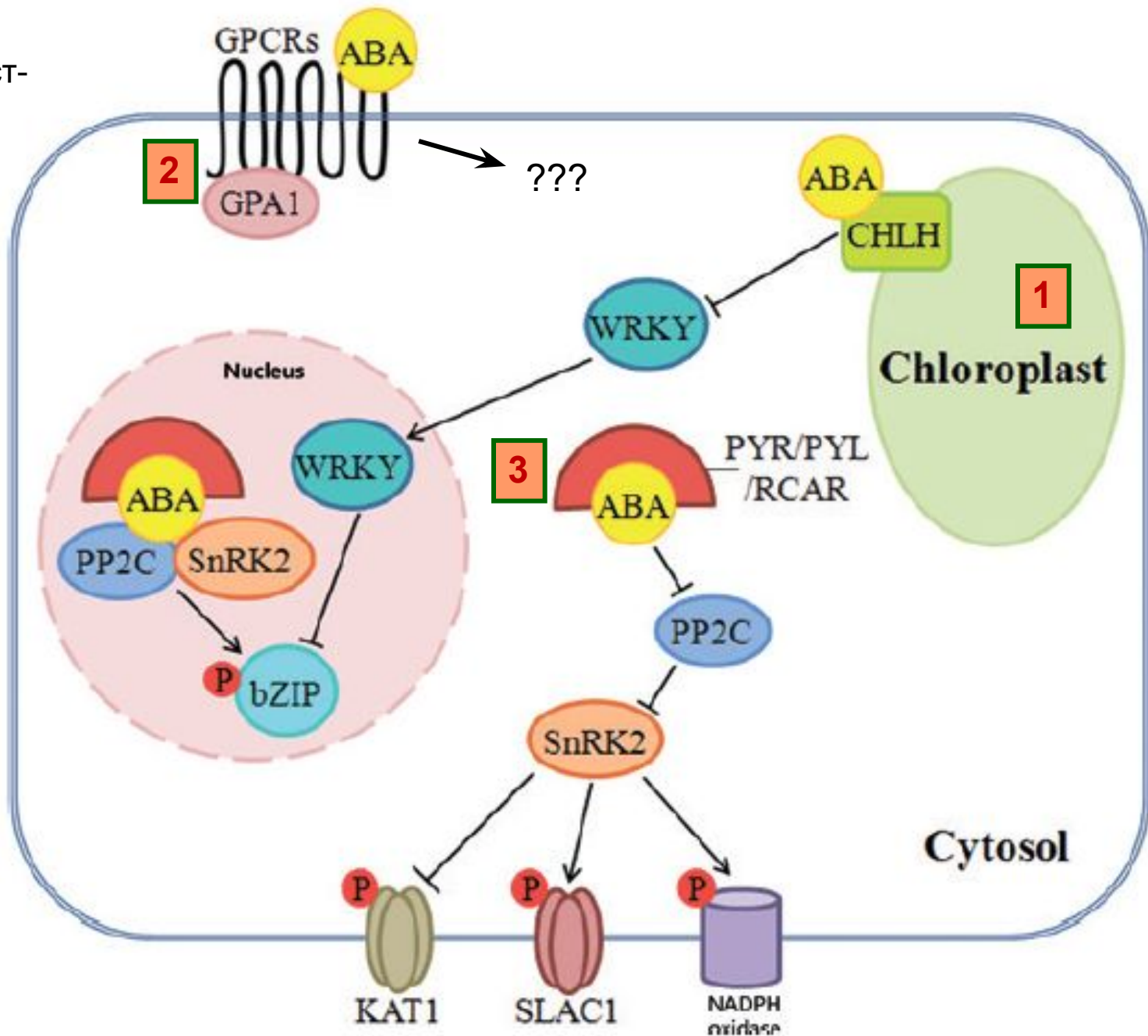
? Три независимых рецептора запускают независимые пути передачи сигнала для реализации разных программ развития ?

Рецепция и передача сигнала АБК

1 Хлоропласт-
ный
рецептор

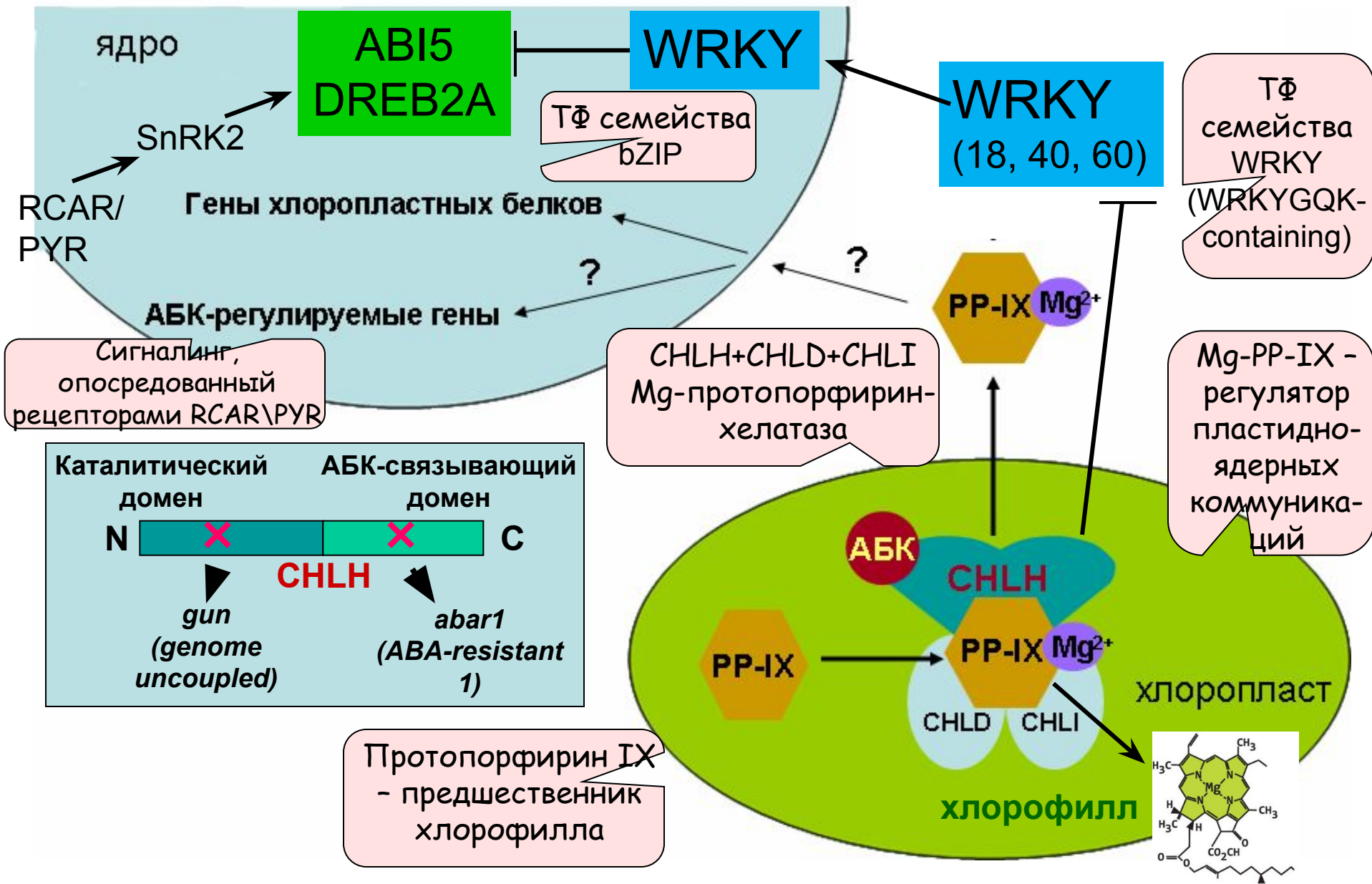
2 Гипотетиче-
ские GPCR

3 Цитозоль-
ный
рецептор



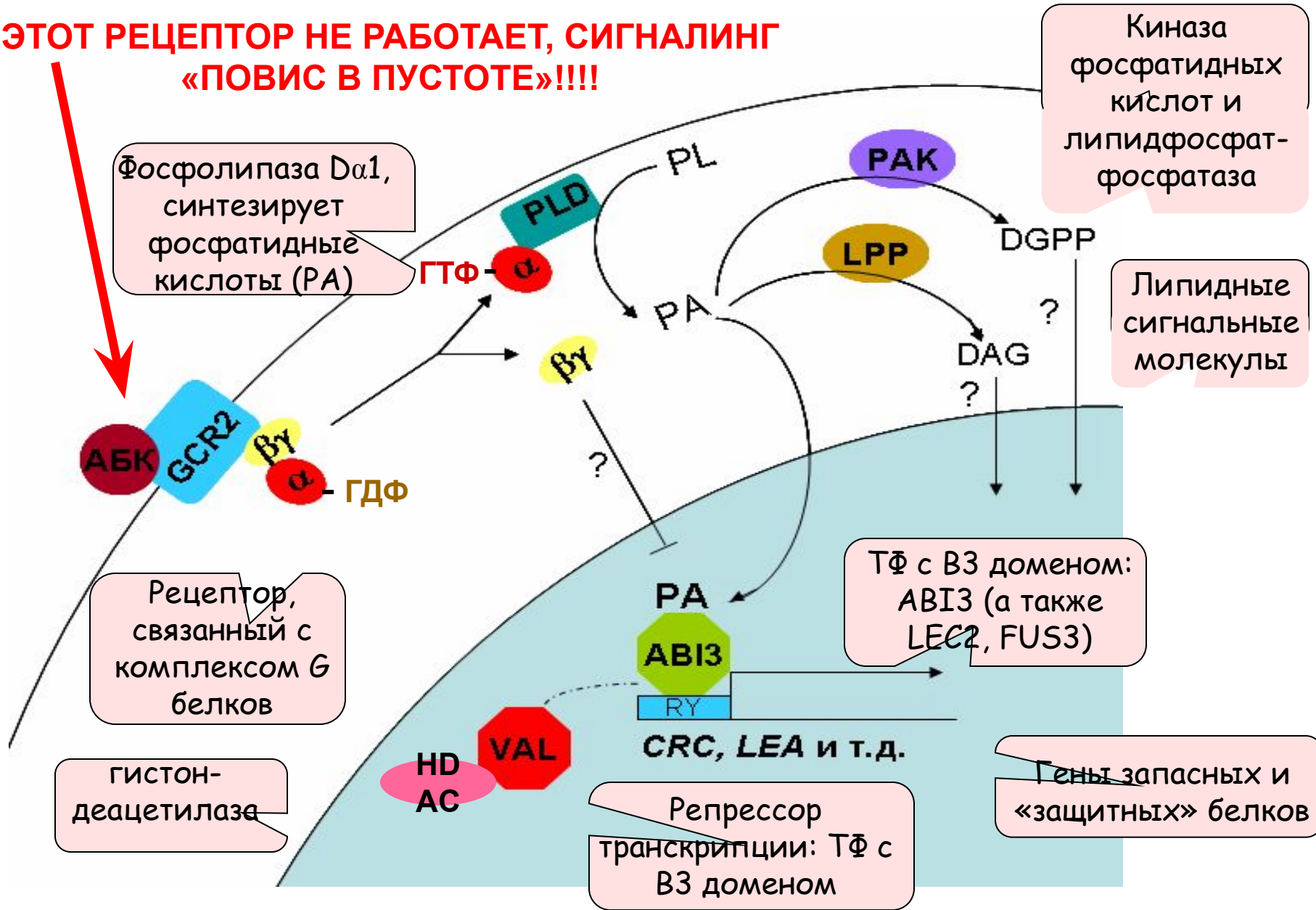
CHLH/ABAR/GUN5 – хлоропластный рецептор АБК

Регуляция экспрессии генов



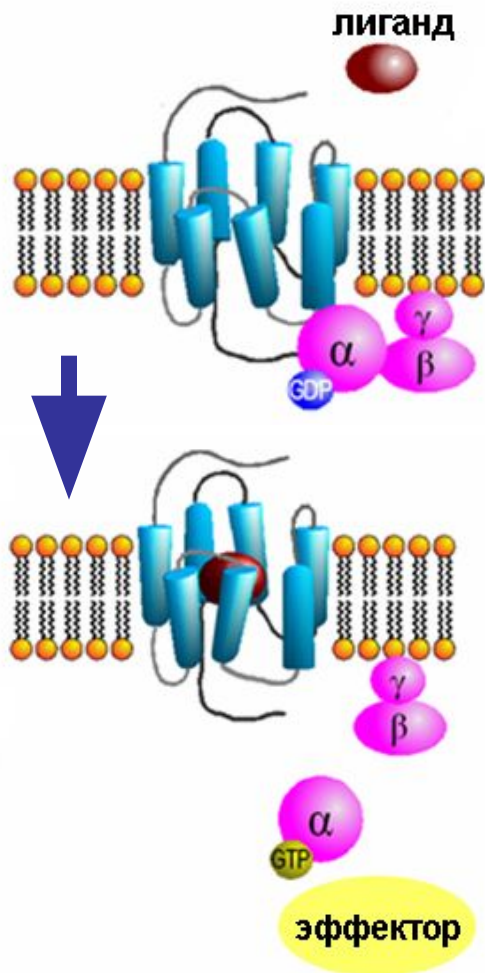
GPCR (G-Protein Coupled Receptors) – плазмалемные рецепторы АБК

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



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

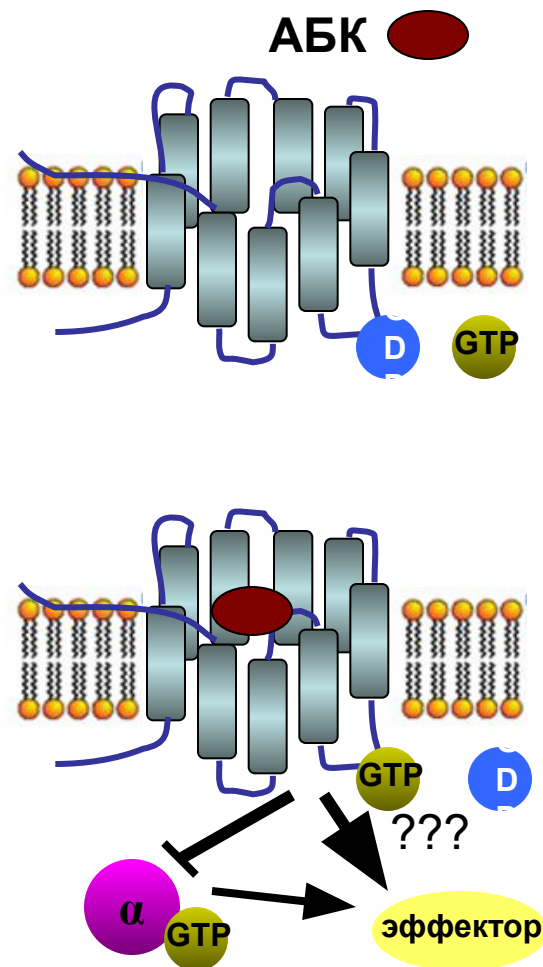
«классические» GPCR



Подавляет
ГТФ-
связывающую
активность $G\alpha$

GTG

АБК

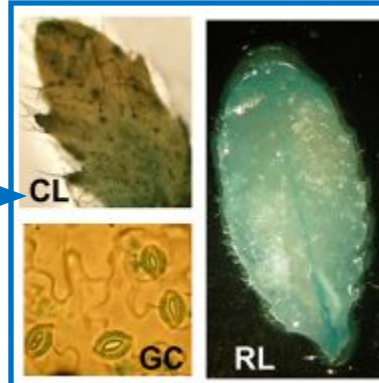
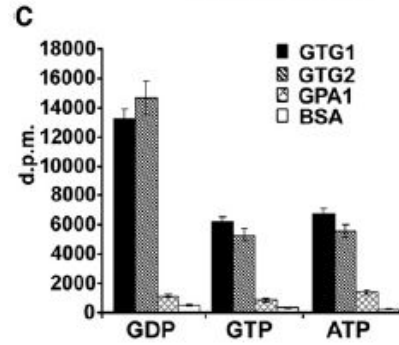
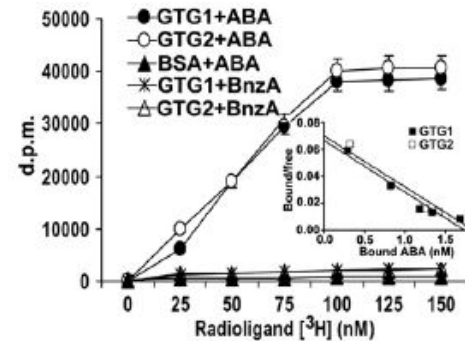
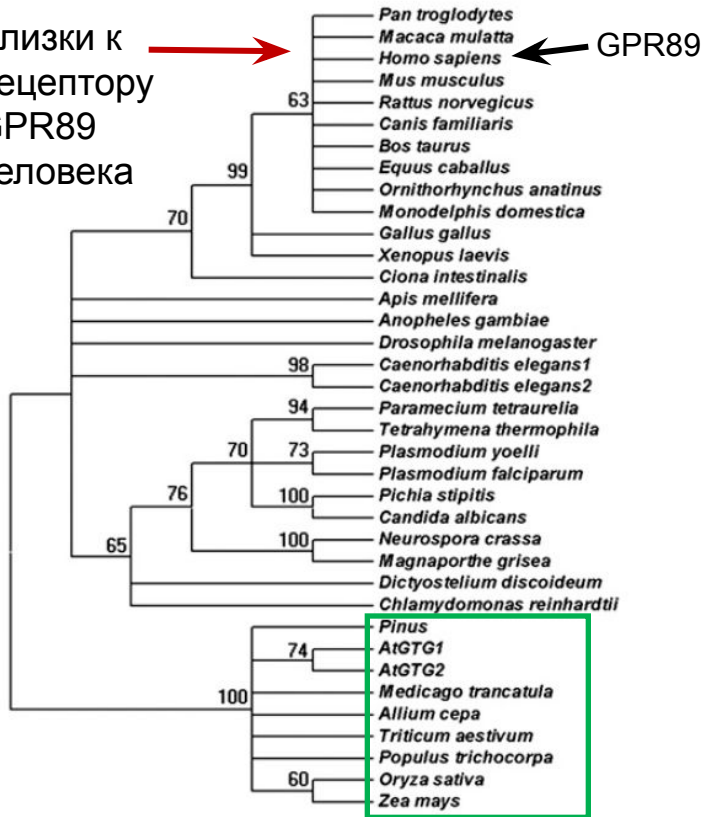


Рецепторы GTG1/2

Связывают АБК

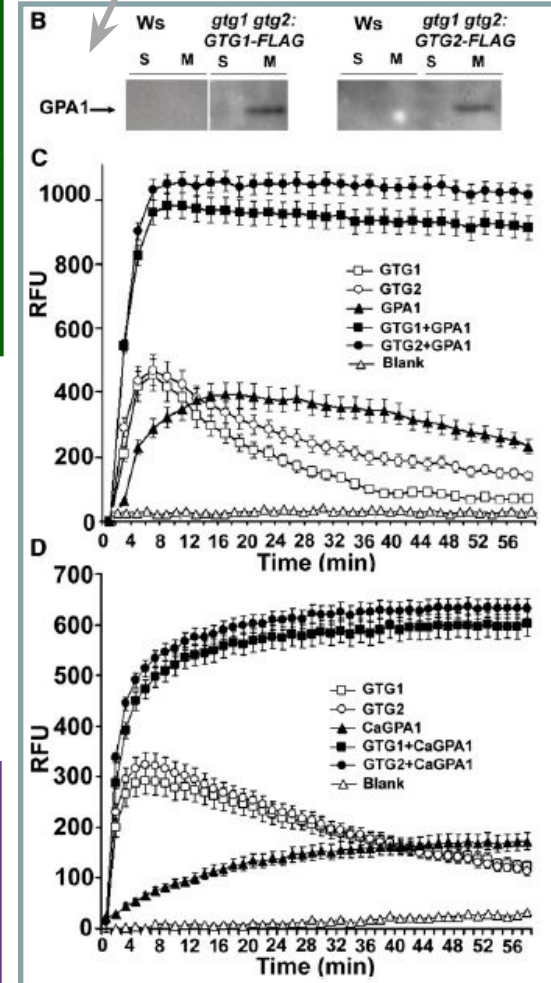
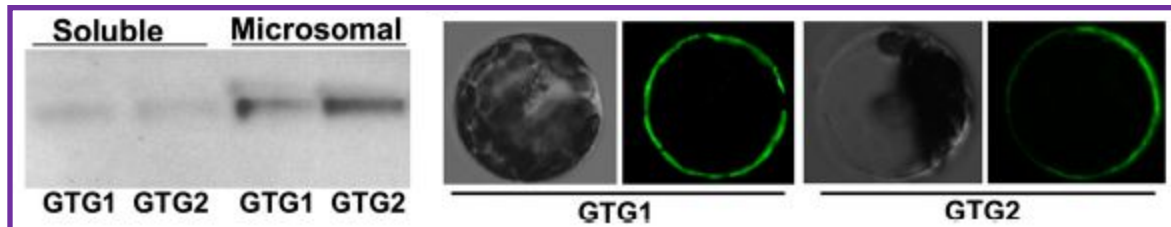
GPA взаимодействует с GTG и снижает их ГТФазную активность

Близки к рецептору GPR89 человека

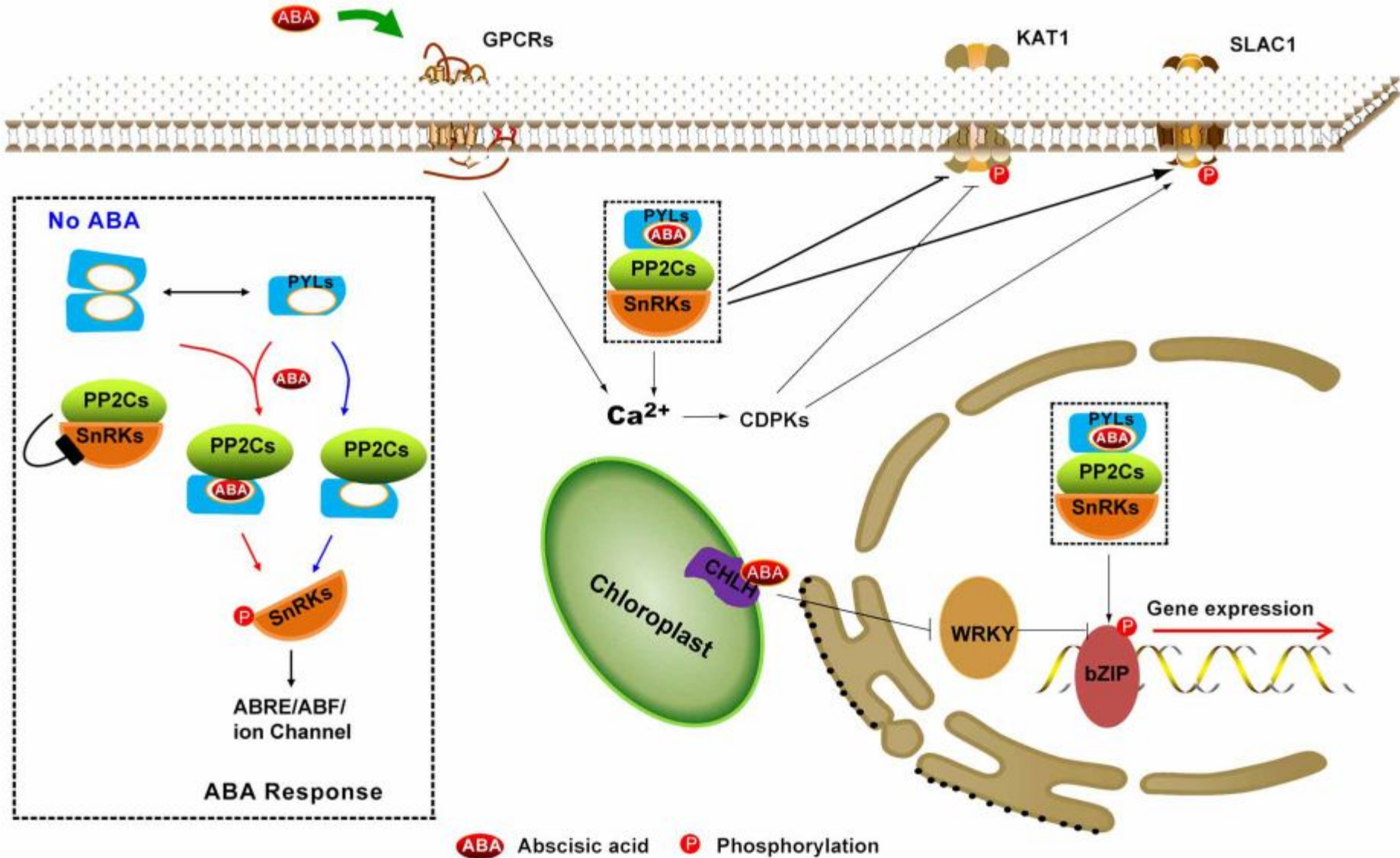


Гены GTG1 и 2 экспрессируются сильнее всего в проводящей системе и замыкающих клетках

Белки GTG1 и 2 локализованы на плазмалемме

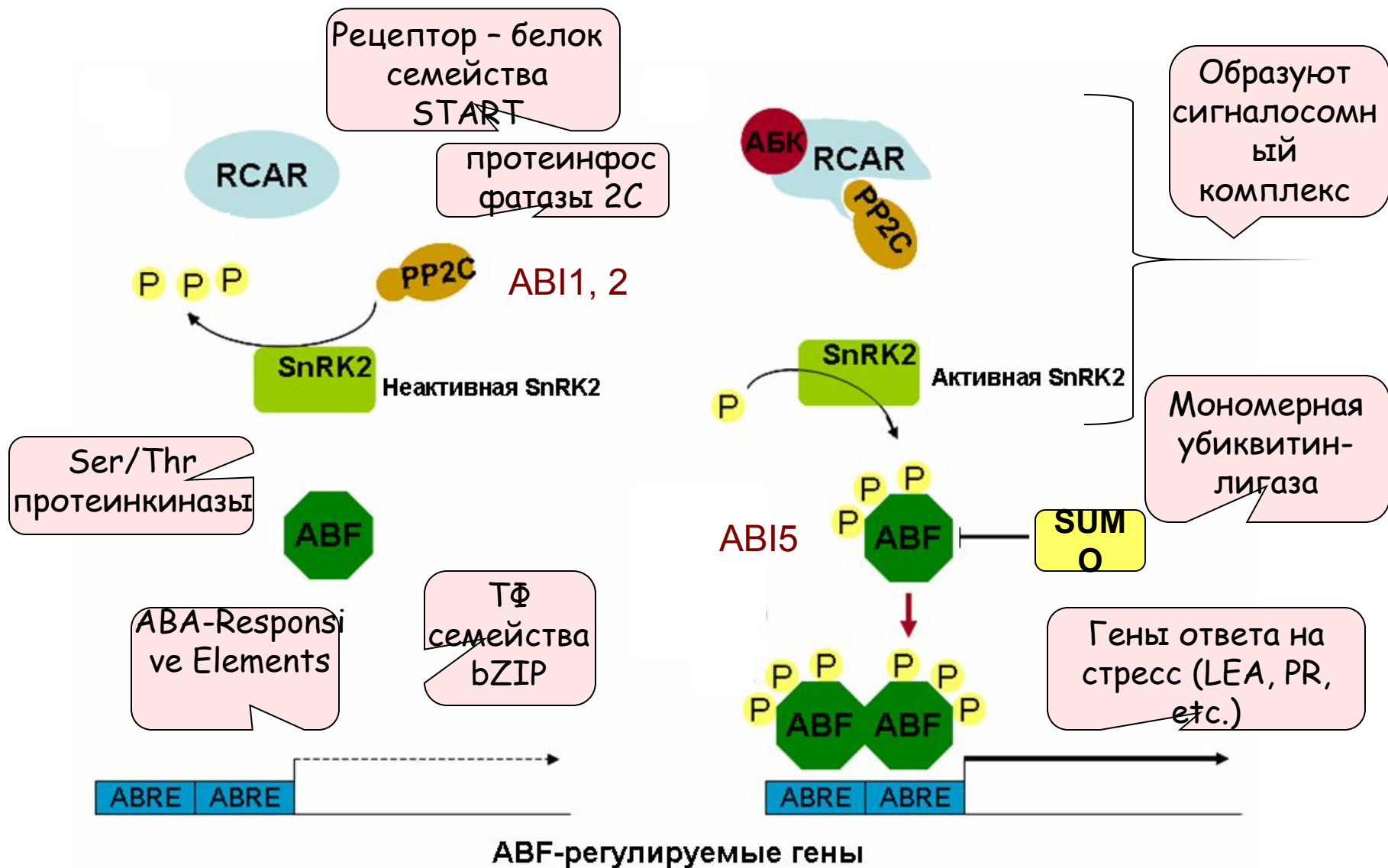


По современным представлениям GPCRs и CHLH являются «вспомогательными» рецепторами АБК, основную функцию выполняют рецепторы RCAR/PYR

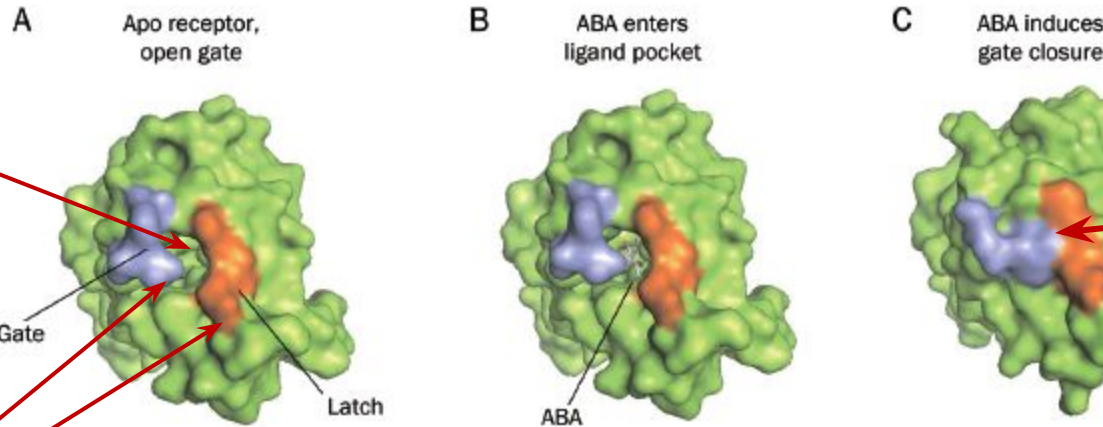


RCAR/PYR/PYL – цитозольные рецепторы АБК

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



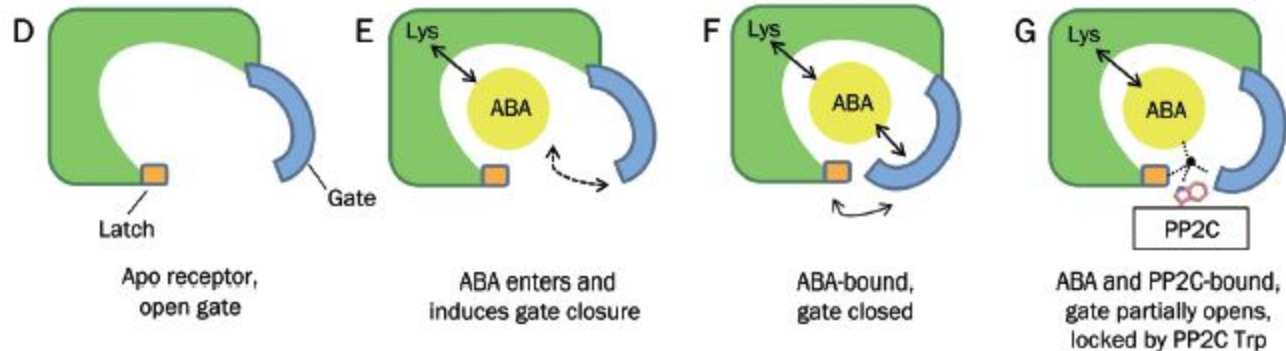
Модель взаимодействия RCAR/PYR/PYL с АБК и PP2C: «калитка и задвижка»



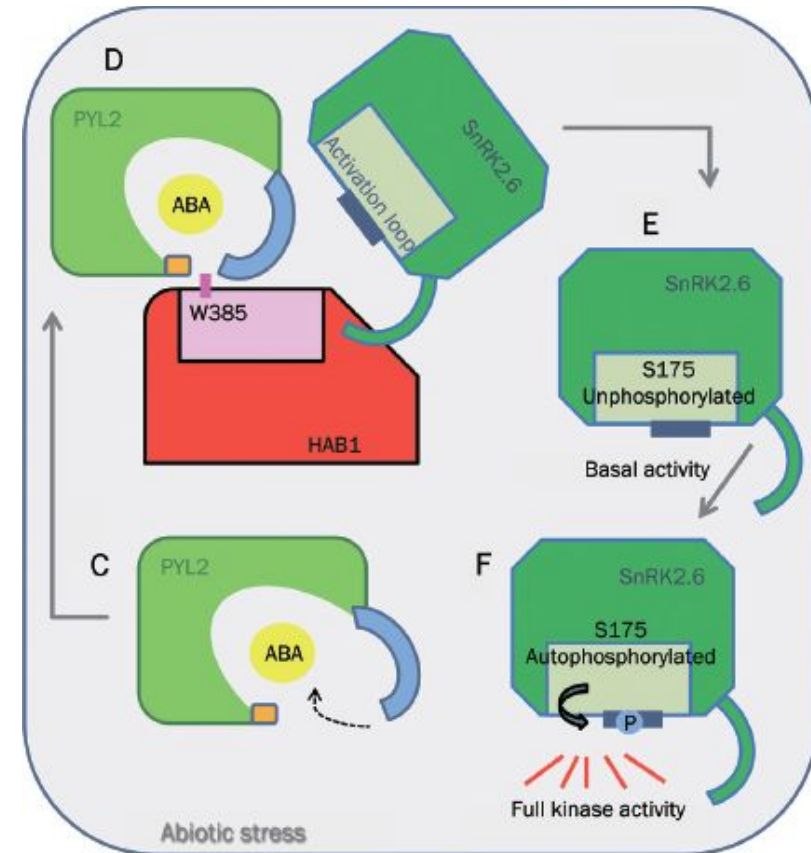
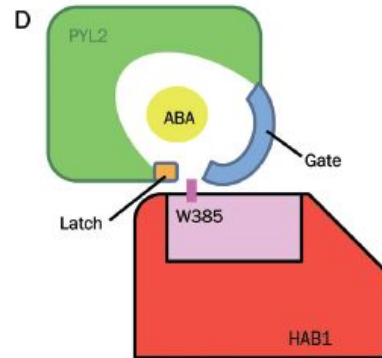
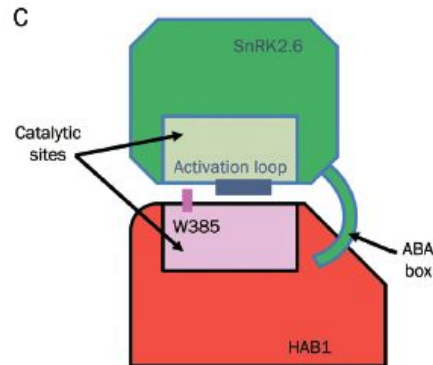
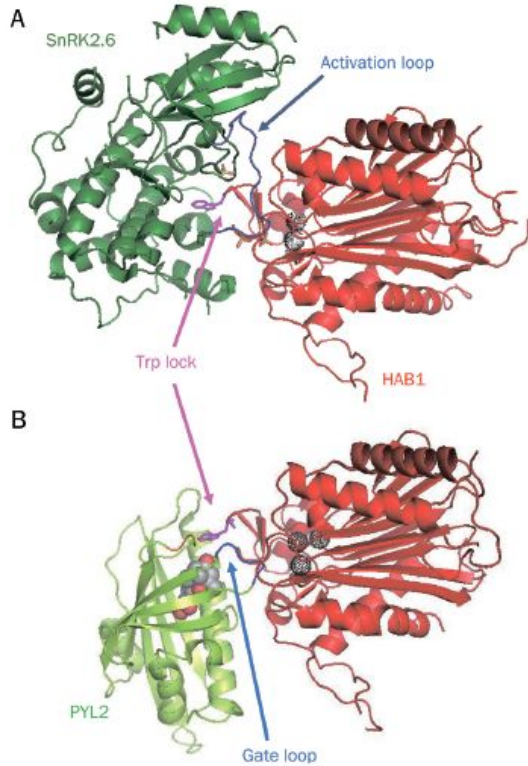
PP2C
связывается с
«закрытой
калиткой» и
АБК

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

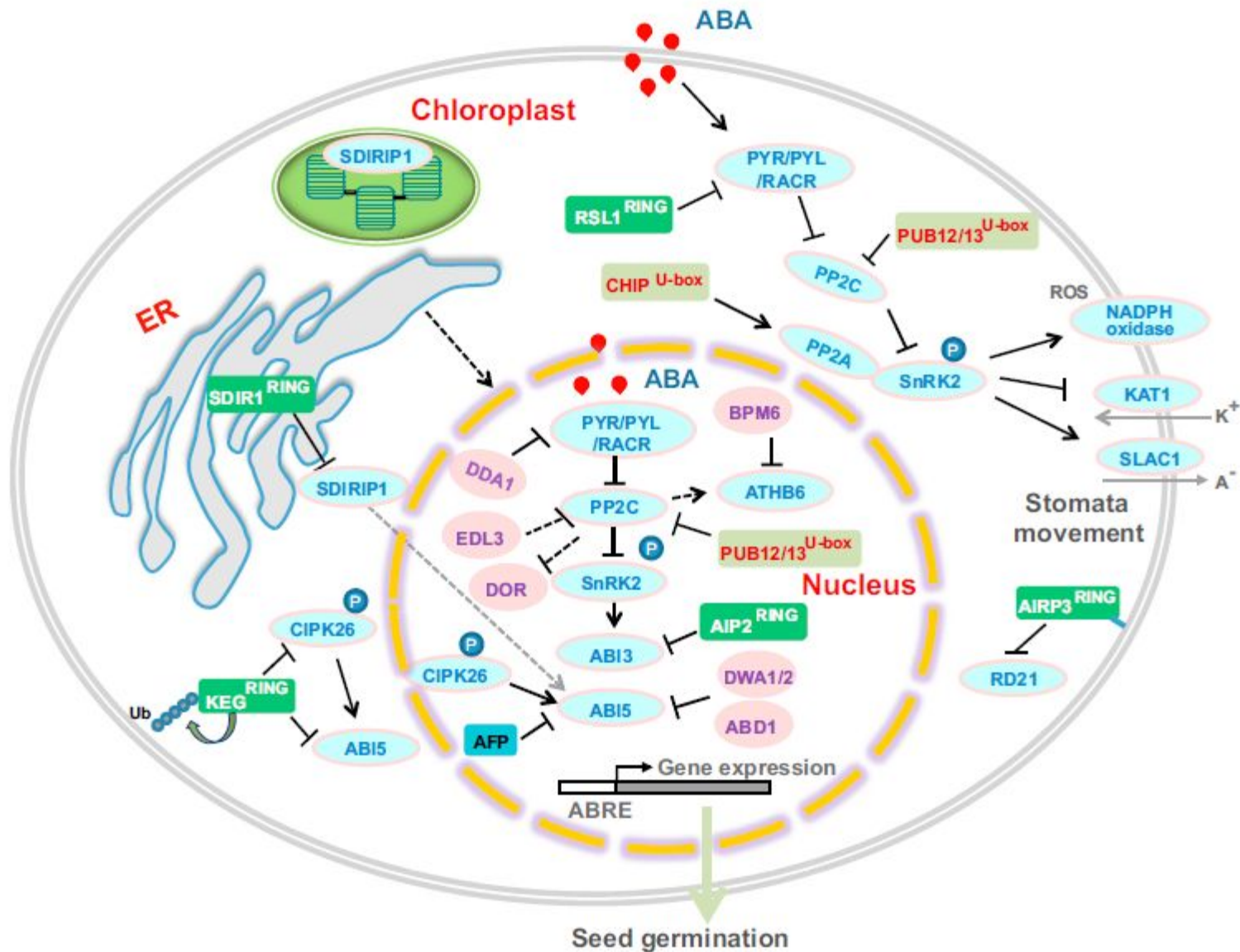
2 важные β -
петли

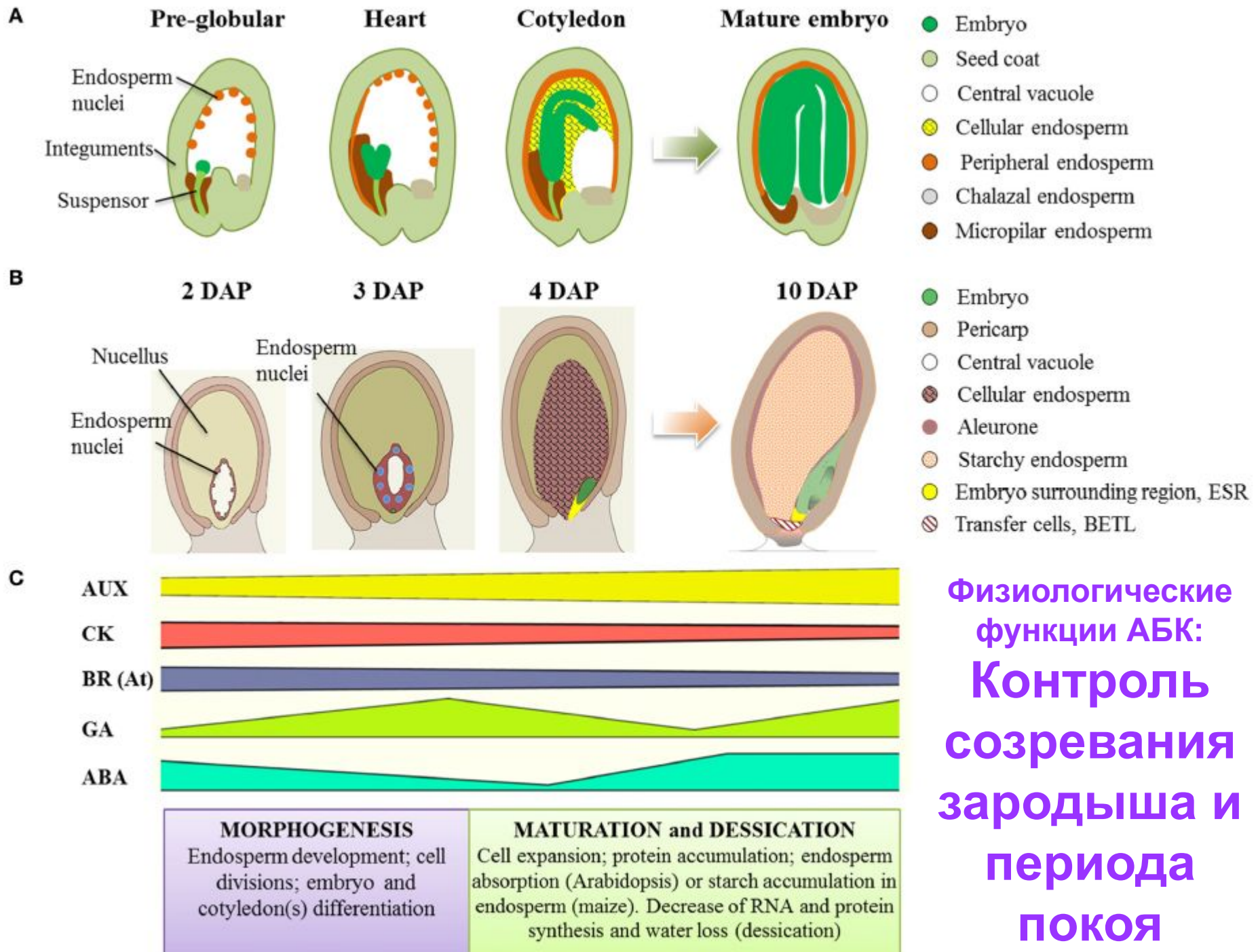


Модель взаимодействия белков PYR, PP2C и SnRK2 (HAB1 = PP2C)

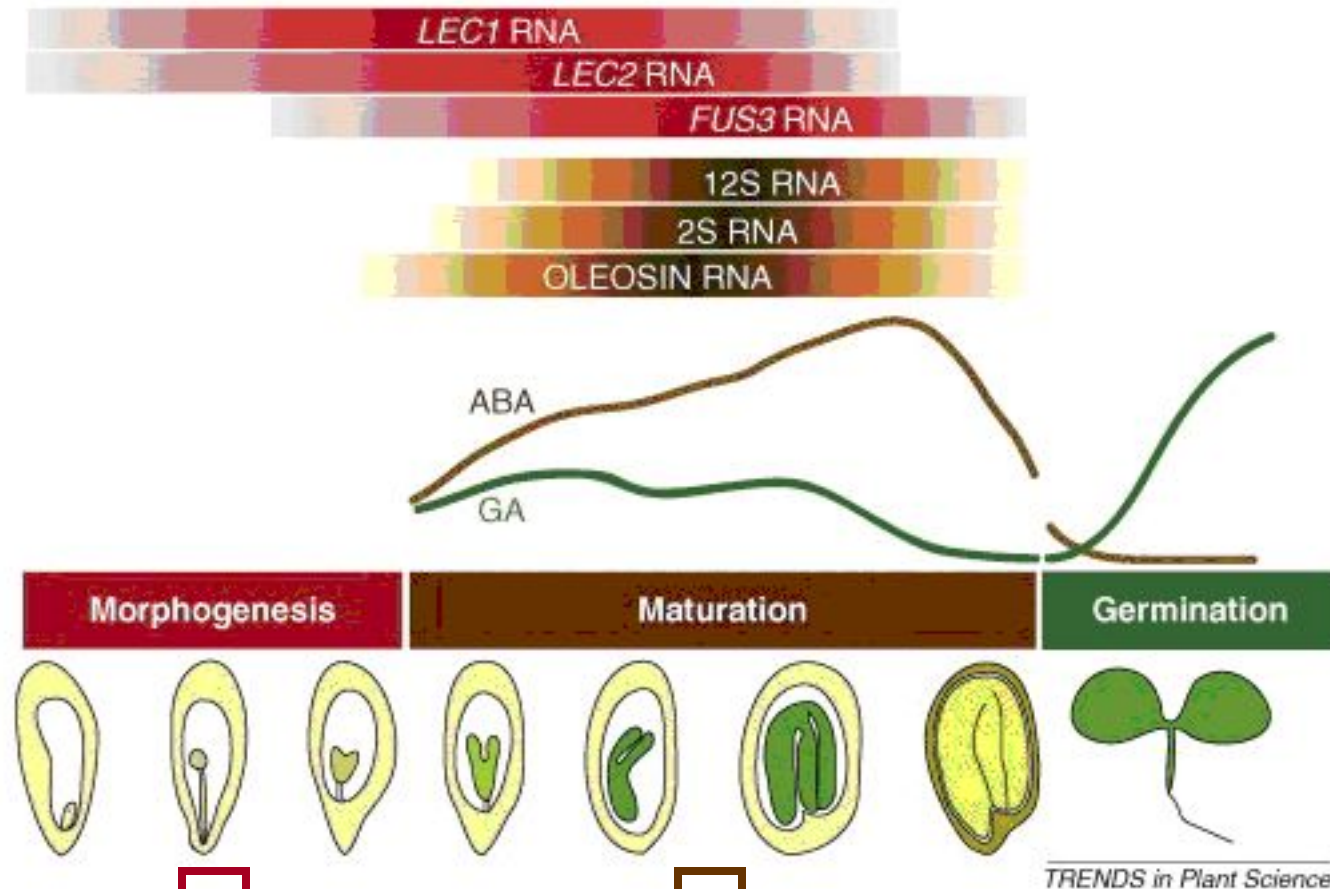


В «дозировании» ответа на АБК принимает участие большое количество мономерных убиквитин-лигаз





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:

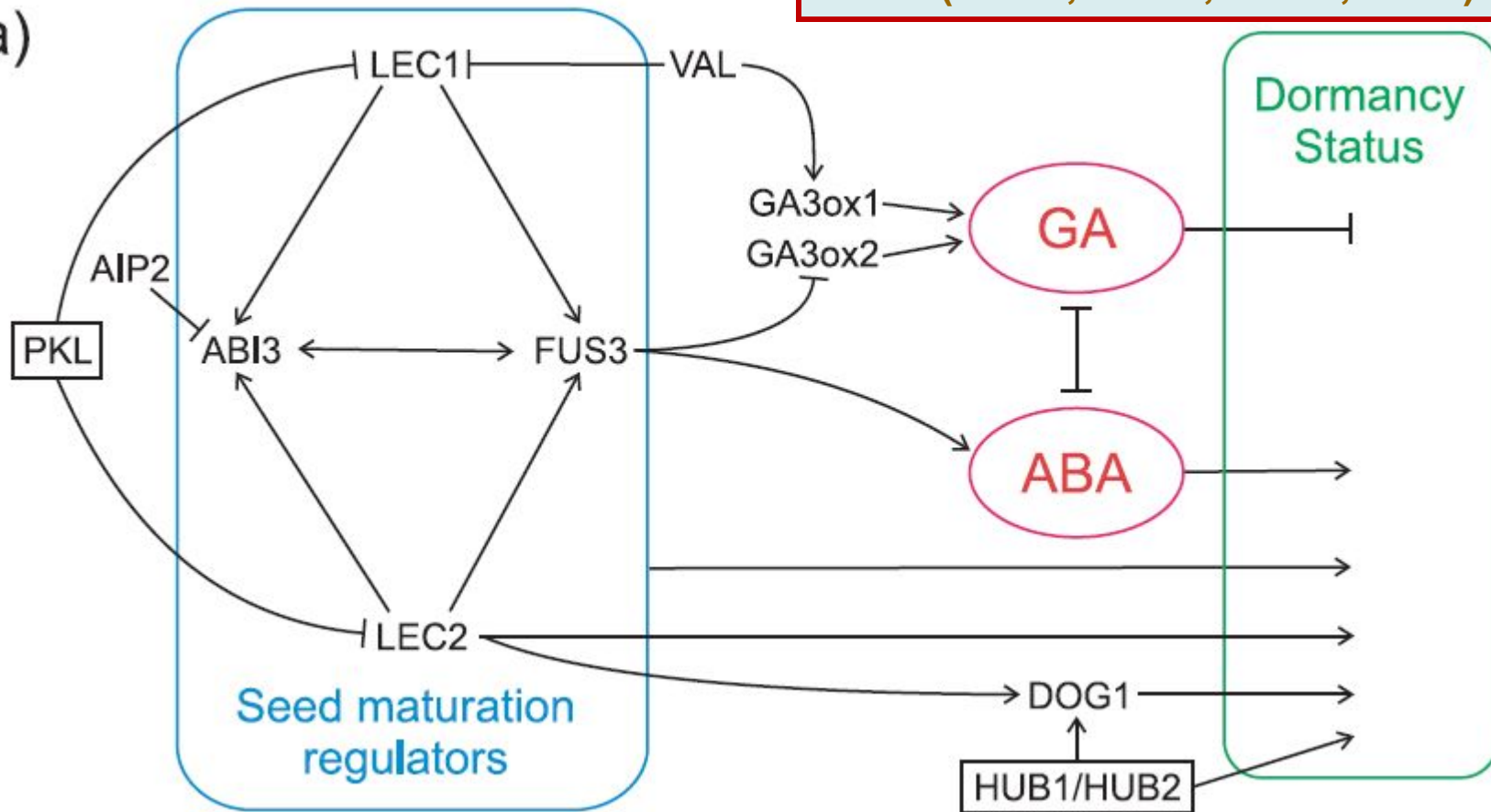
Накопление
запасных
белков

Накопление
LEA белков

Репрессия
метаболиз
ма

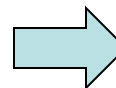
Механизм: Антагонизм ТФ
LAFL (LEC1, LEC2, FUS3, ABI3) и VAL

(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 (???)

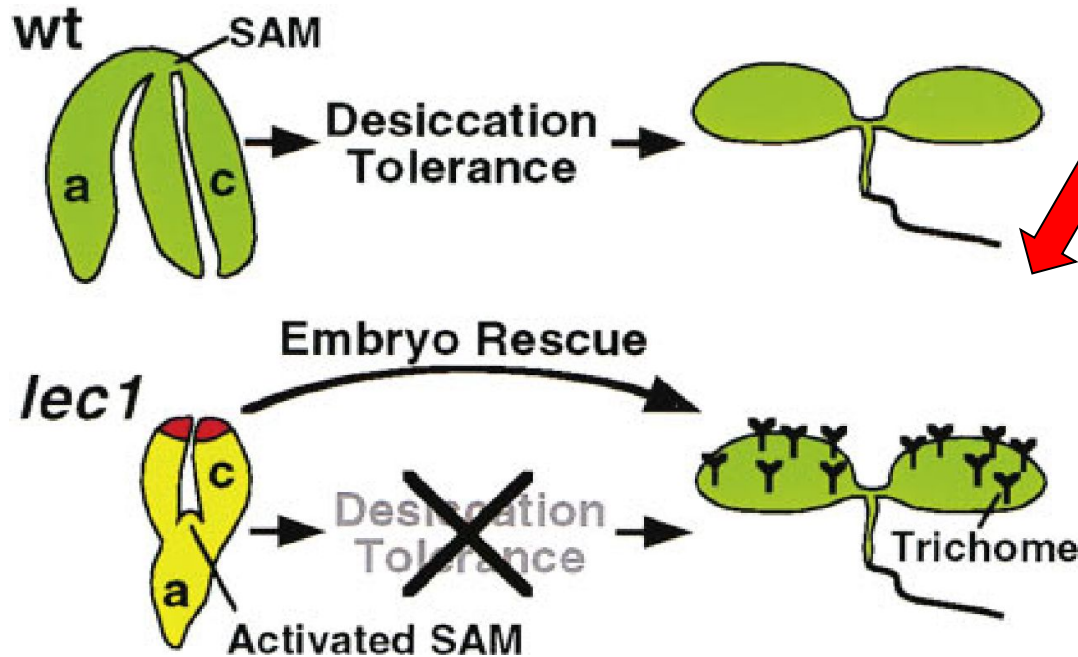


Гены-регуляторы всех стадий эмбриогенеза (???)

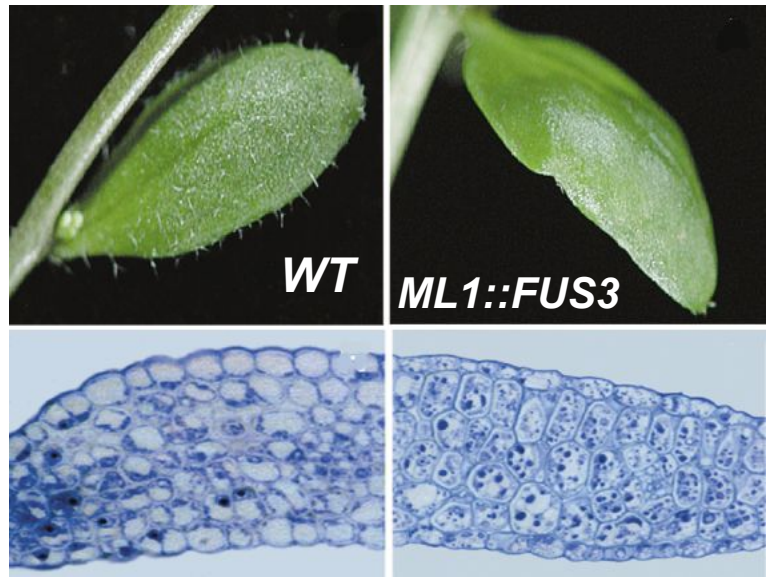
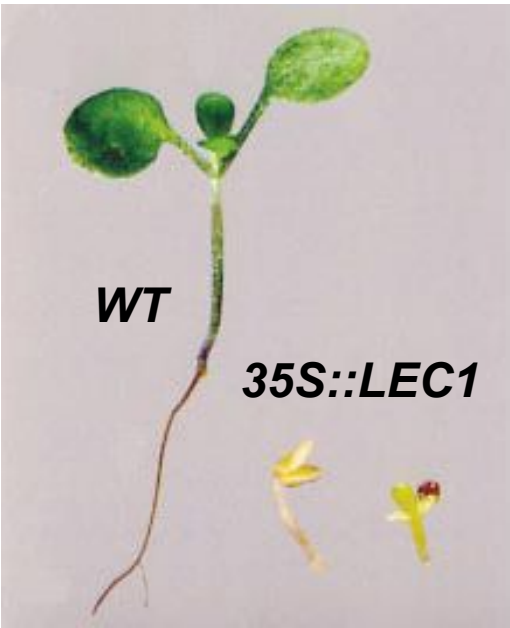


«Гены прорастания»

Характерные черты мутантов *lec*:

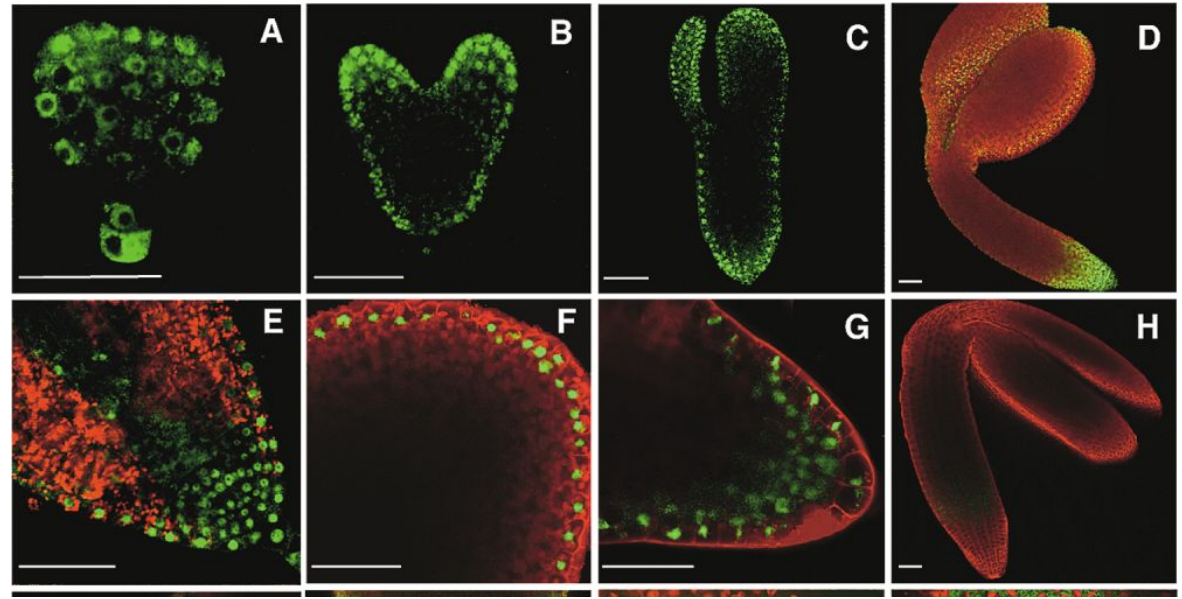


- Вивипария
- Неустойчивость к высыханию
- Снижение количества запасных веществ
- Эктопическое деление клеток (пролиферация клеток суспензора, активация ПАМ, трихомы на семядолях)



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

- Ювенильность
- Накопление питательных
веществ



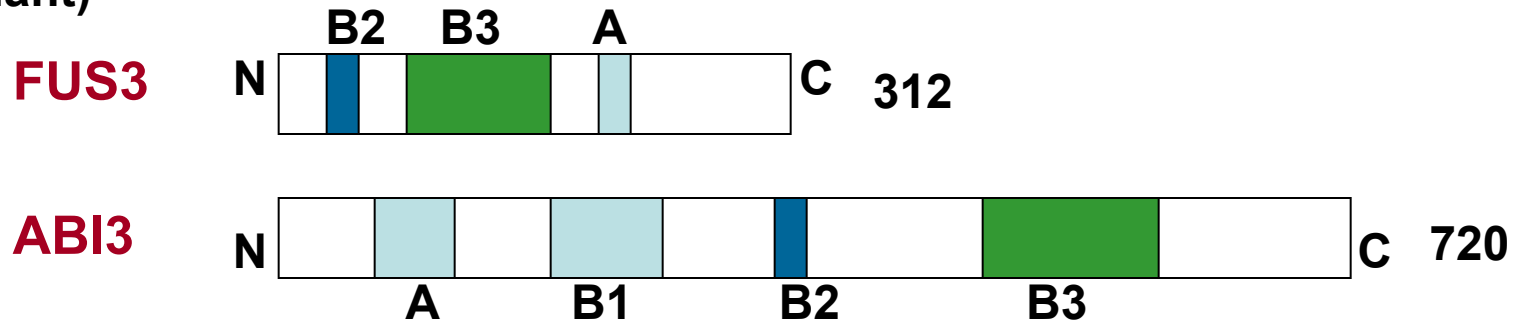
**Экспрессия конструкции
FUS3::GFP на разных
стадиях развития
зародыша
(у *LEC1* и *LEC2* - сходный
характер экспрессии)**

• **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)

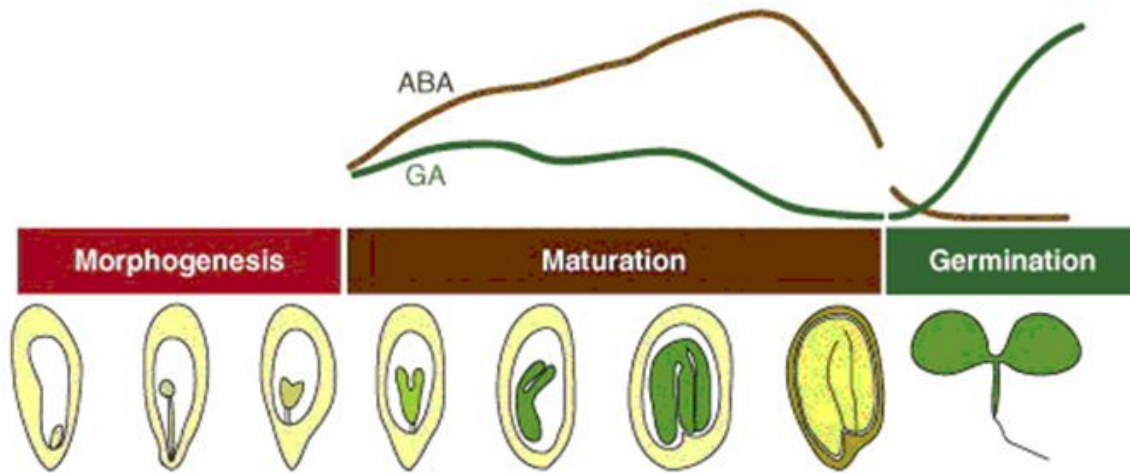


• **LEC1** – НАР3-субъединица ССАТ-бок-связывающего ТФ (CBF)

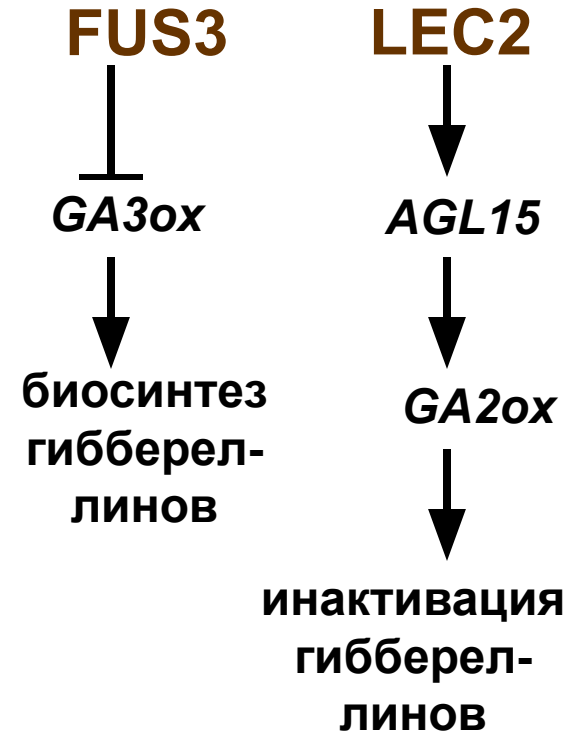
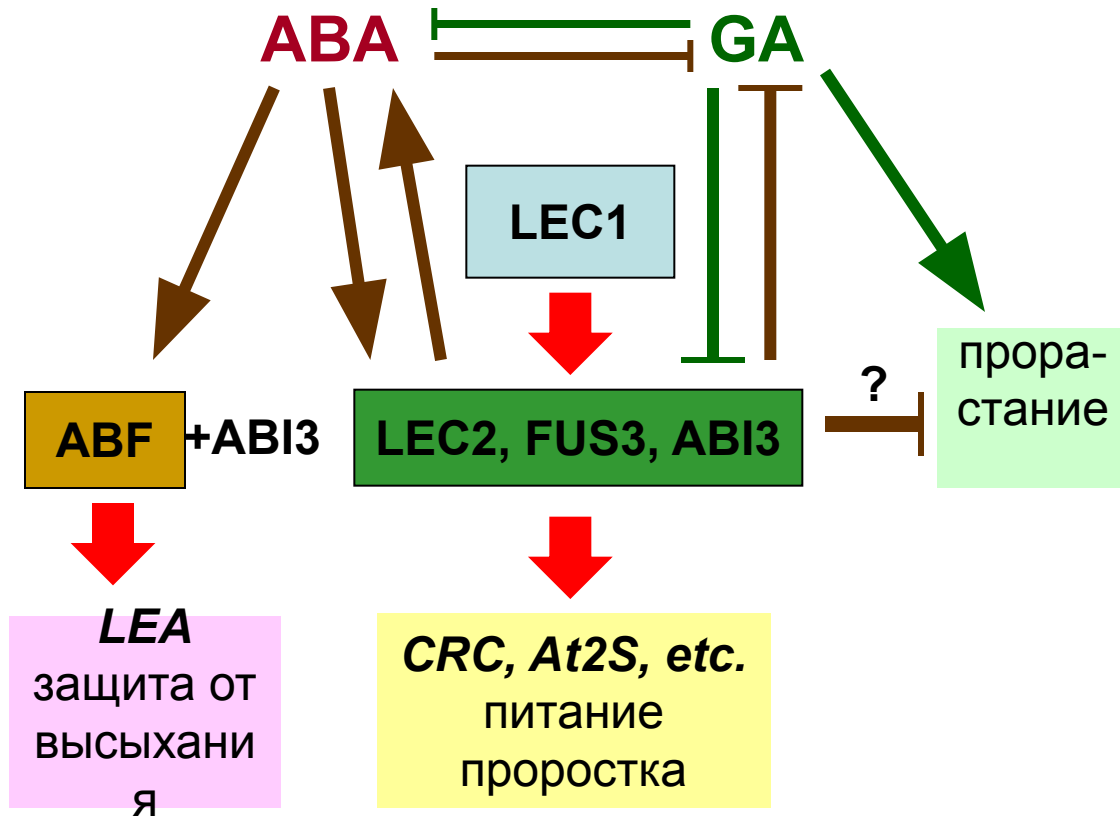
• Консервативный ДНК-связывающий В-домен имеет высокую гомологию с белками НАР3 всех эукариот

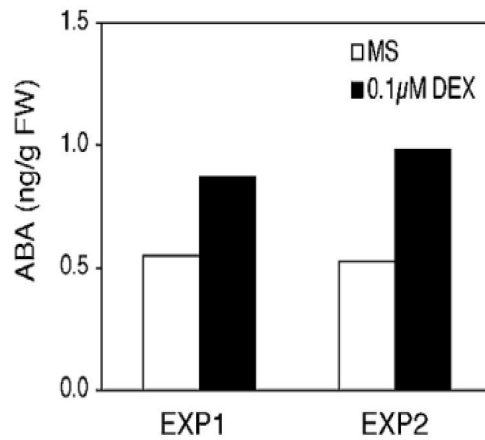
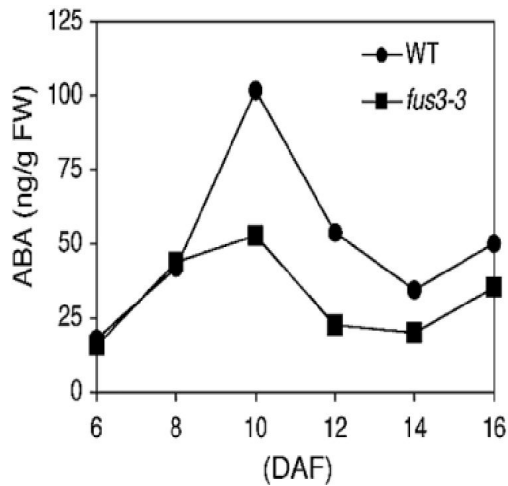
• Действует раньше LEC2, FUS3 и ABI3, позитивно регулируя экспрессию их генов



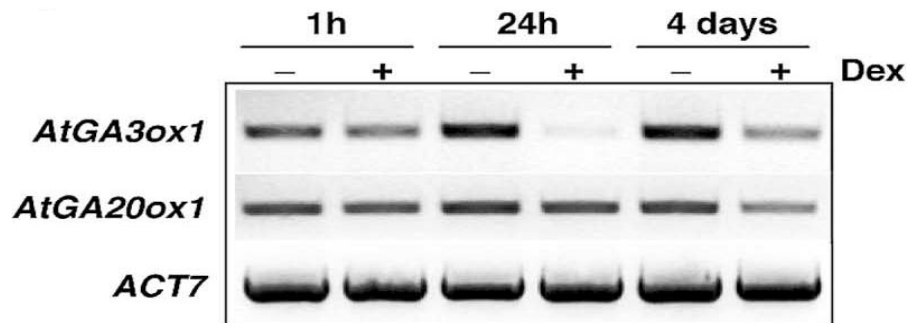


Взаимодействие LEC генов с абсцизовой кислотой и гиббереллинами

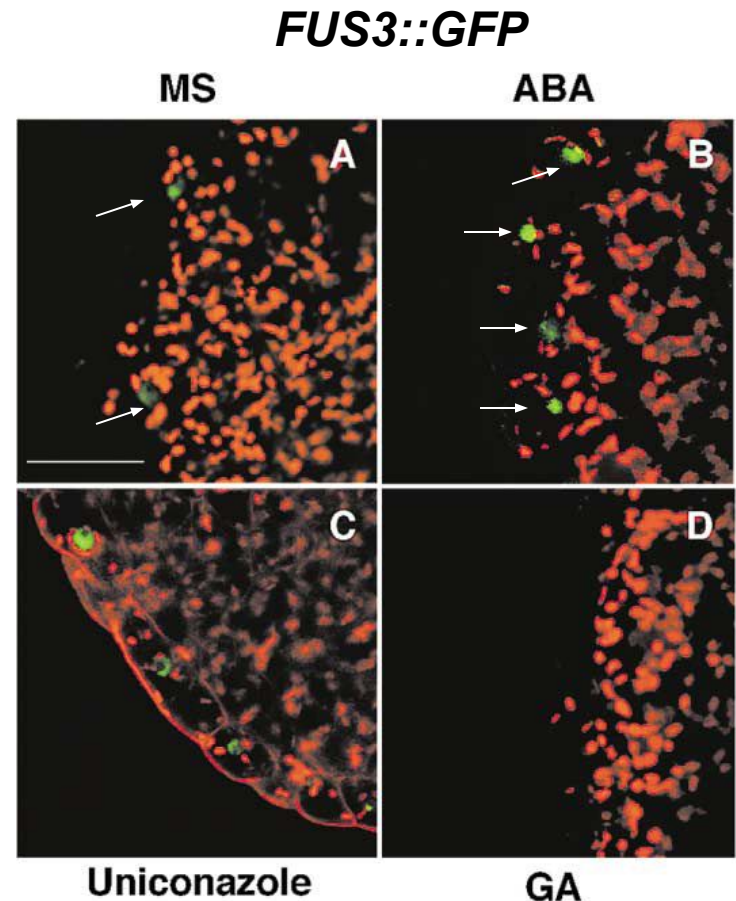




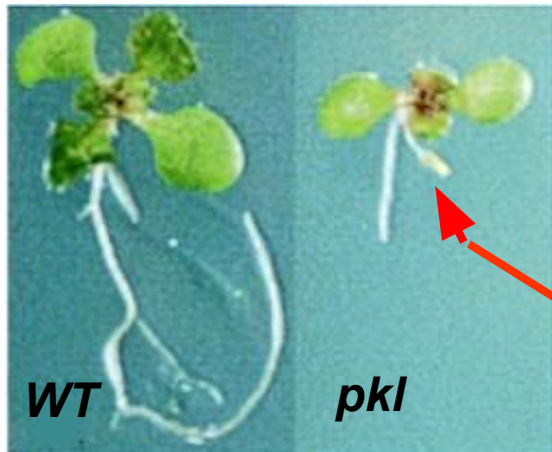
FUS3 позитивно регулирует биосинтез АБК и негативно – биосинтез ГК (через регуляцию экспрессии гена *Ga3ox1*)



Стабильность белка FUS3 позитивно регулируется АБК и негативно - гиббереллинами

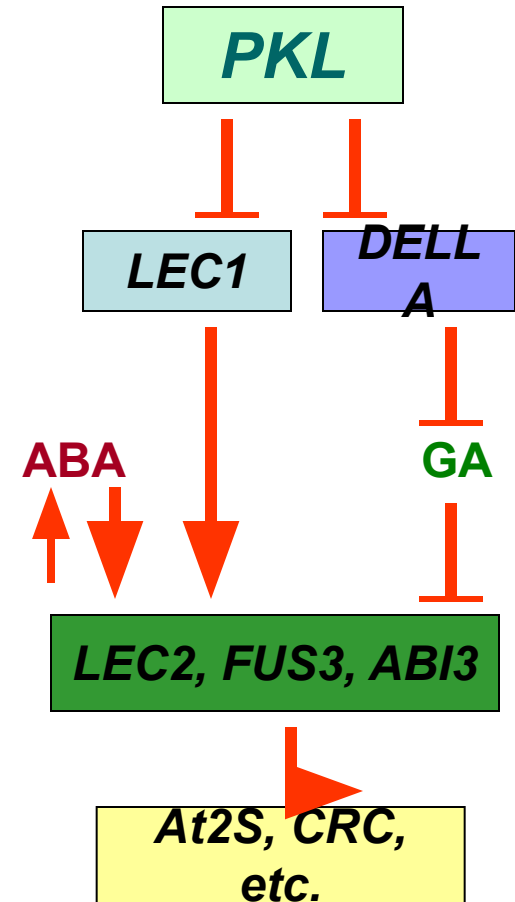


Антагонист *LEC* генов - *PICKLE* (*PKL*)

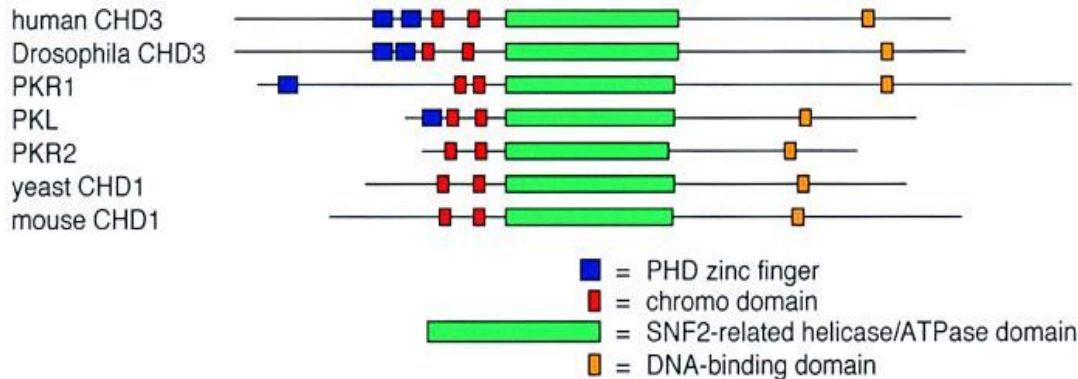


ювенильный фенотип

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

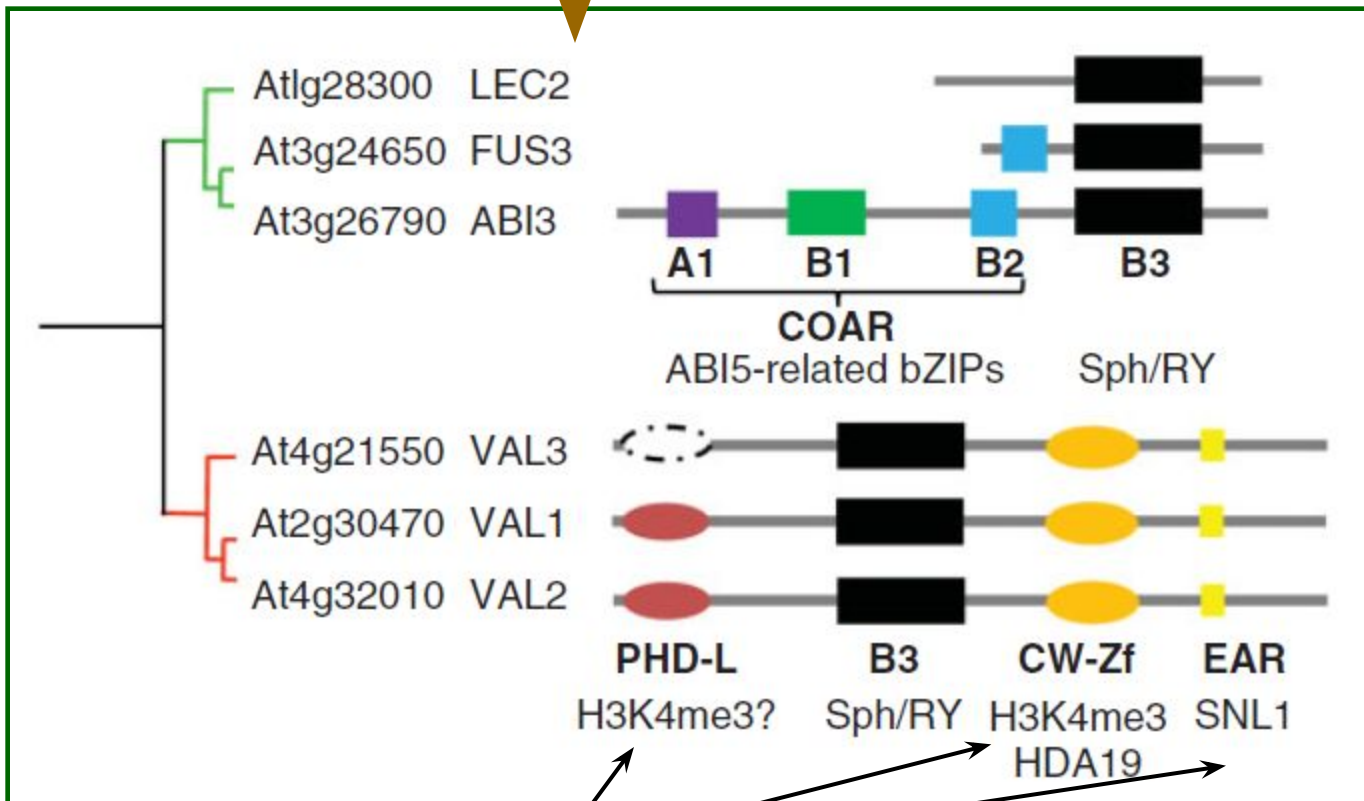
LEC1 – ТФ с NAR3 доменом, регулирует экспрессию генов **LEC2, FUS3, ABI3**

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



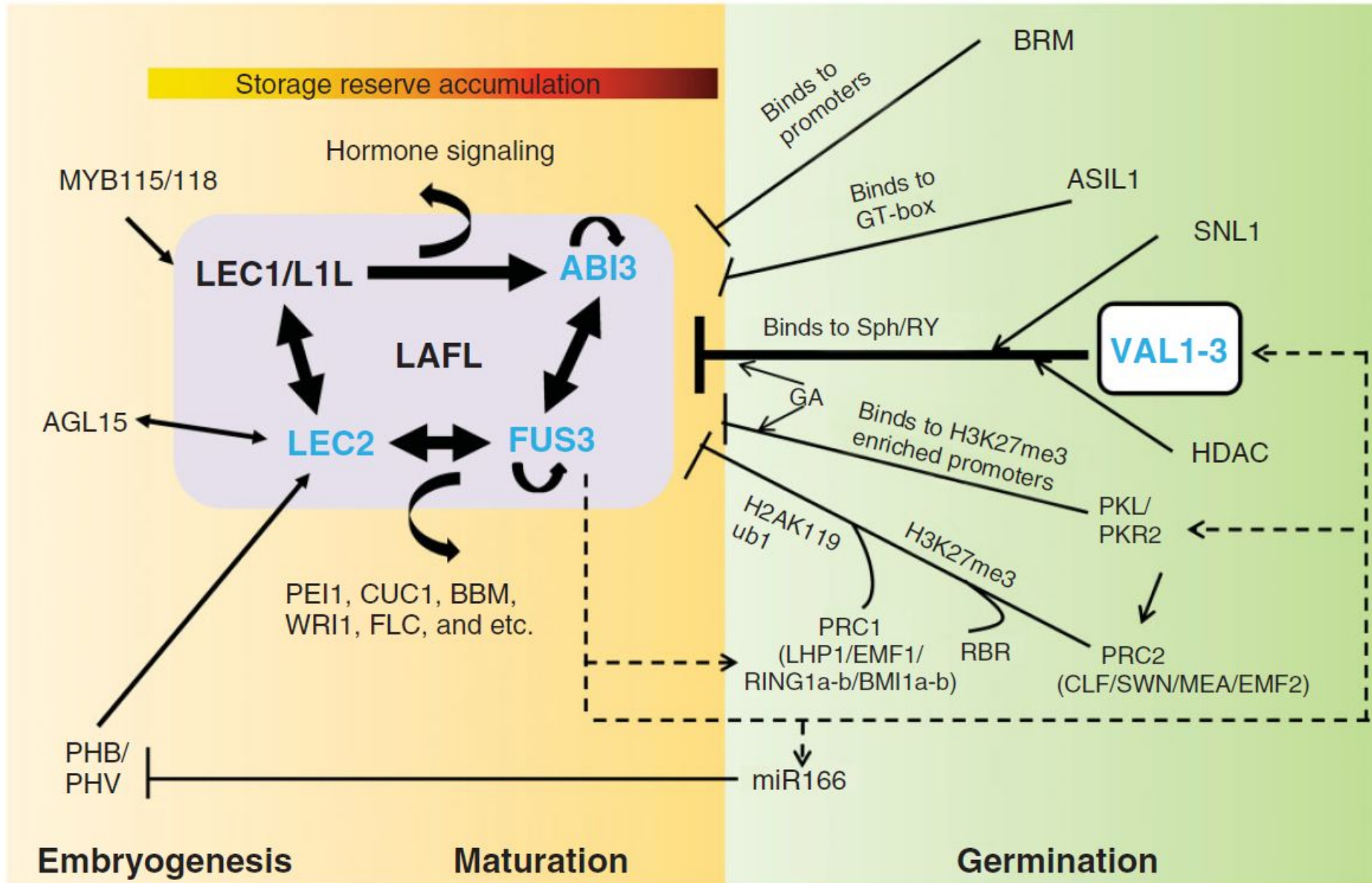
Мишени LAFLs:

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

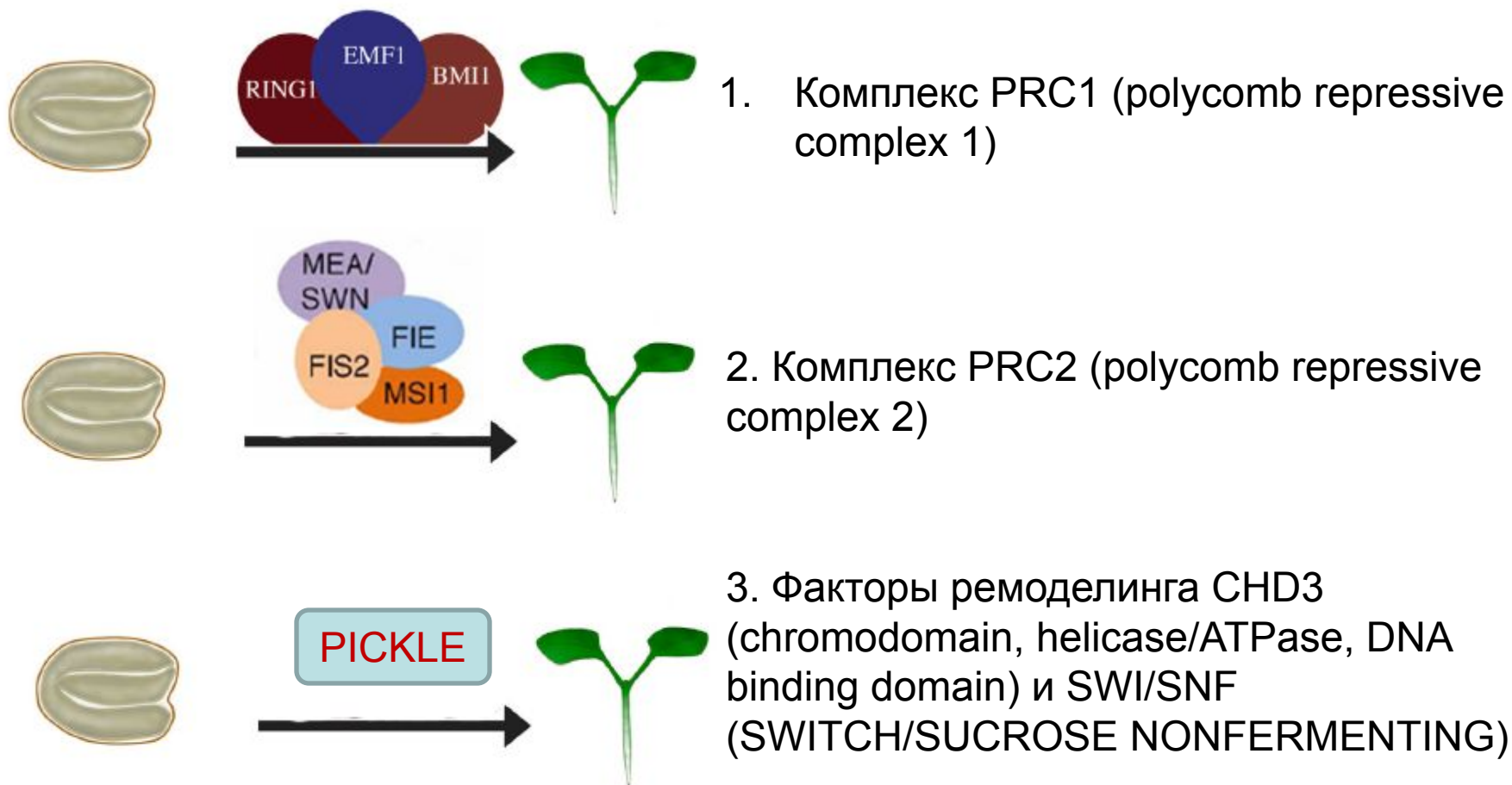
VAL1-3 имеют домены, характерные для репрессоров транскрипции

Физиологические функции АБК: Контроль созревания зародыша и периода покоя



Эпигенетические механизмы контроля созревания зародыша и прорастания:

Подавление экспрессии генов, кодирующих ТФ группы LAFL



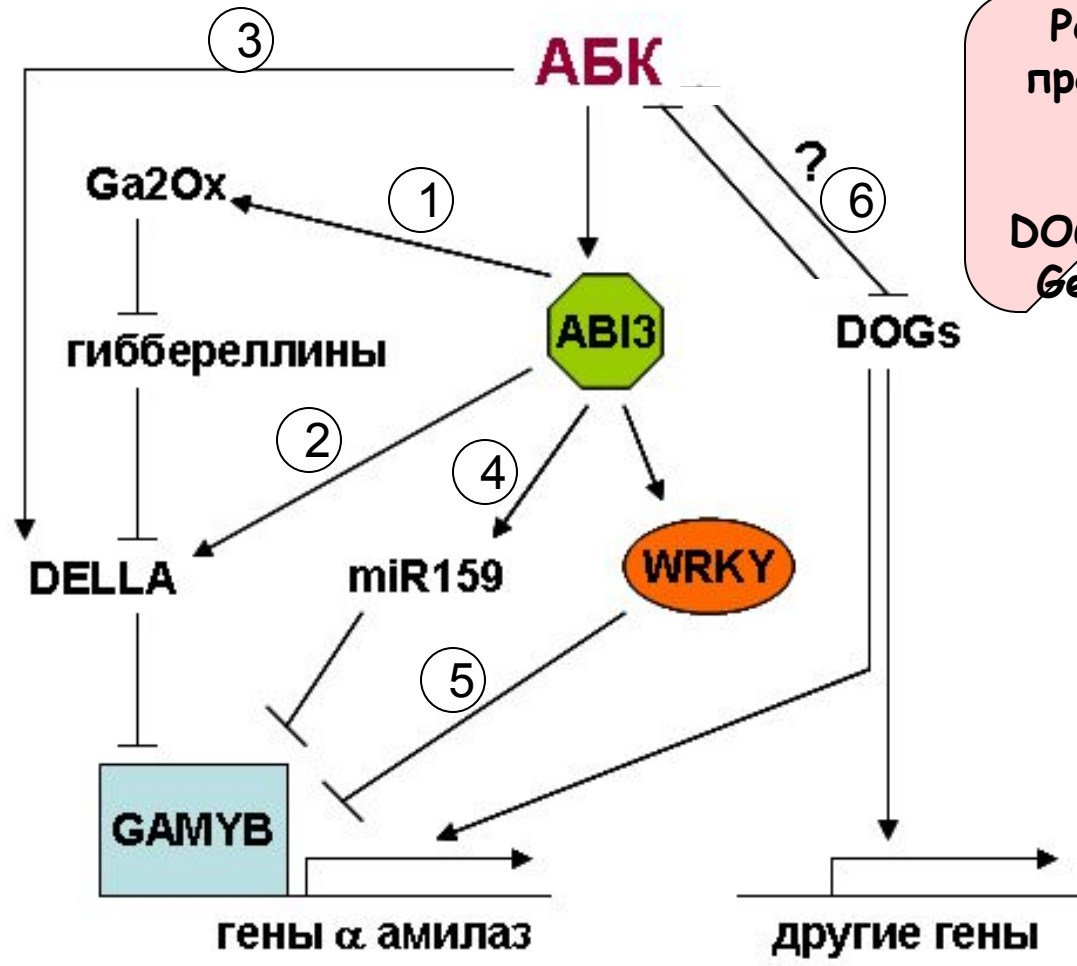
до прорастания



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

Репрессия
гиббереллин-
зависимого
прорастания:
1-5

Репрессия
процессинга
РНК:
6
DOG=Delay of
Germination



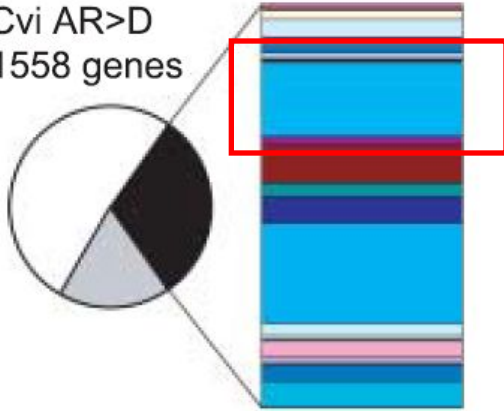
гены α амилаз

другие гены

Dormant seeds

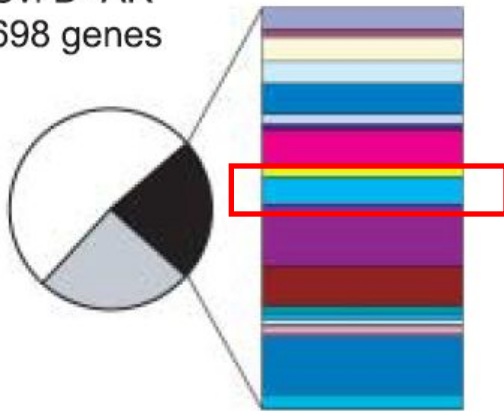
(a)

Cvi AR>D
1558 genes



(b)

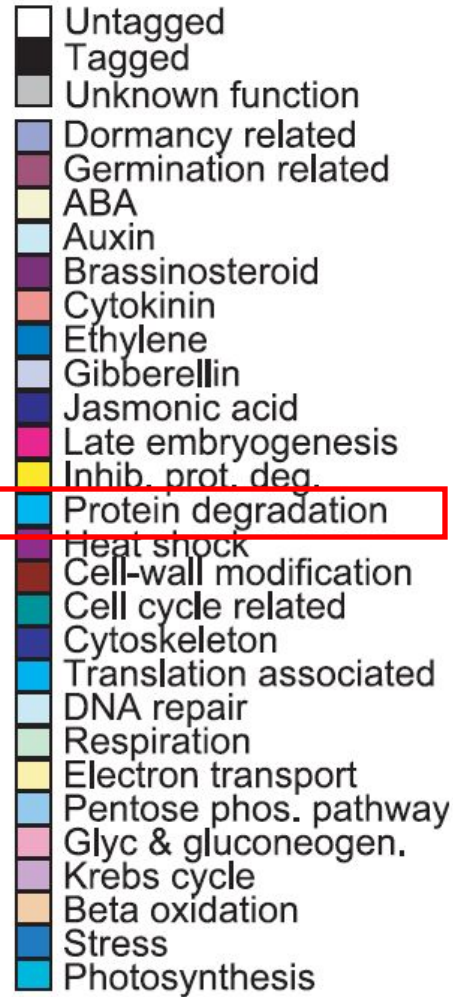
Cvi D>AR
698 genes



After-ripening seeds

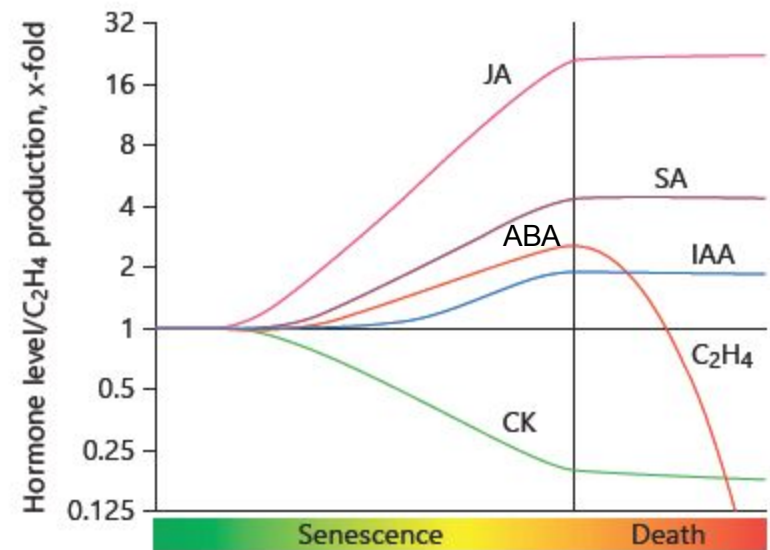
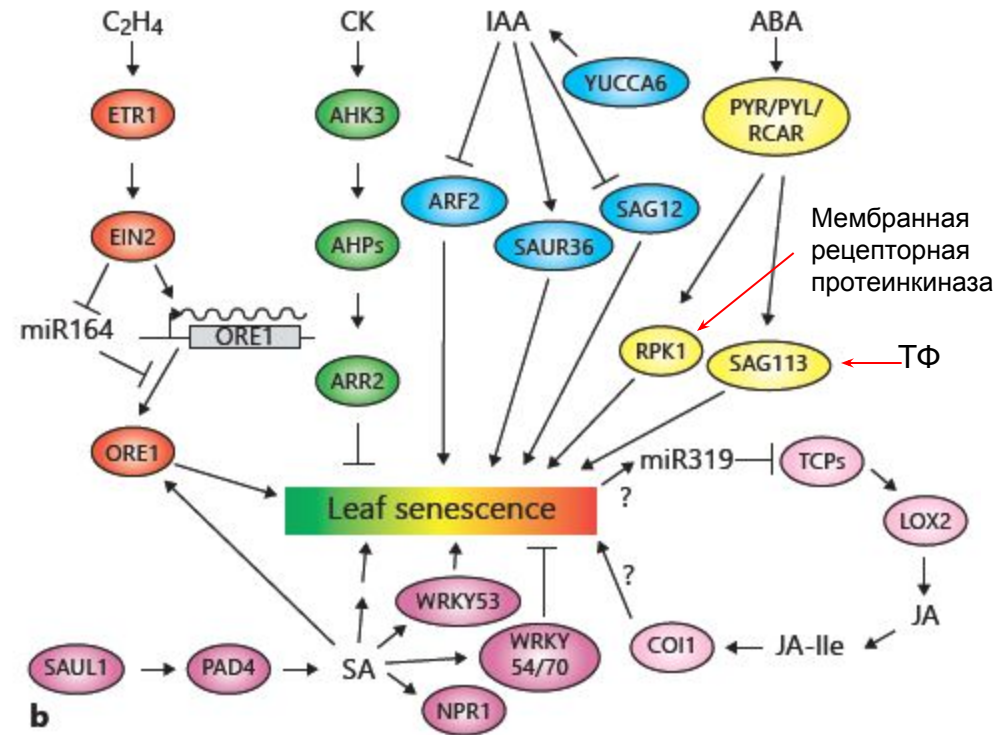
Functional Groups of genes

(c)

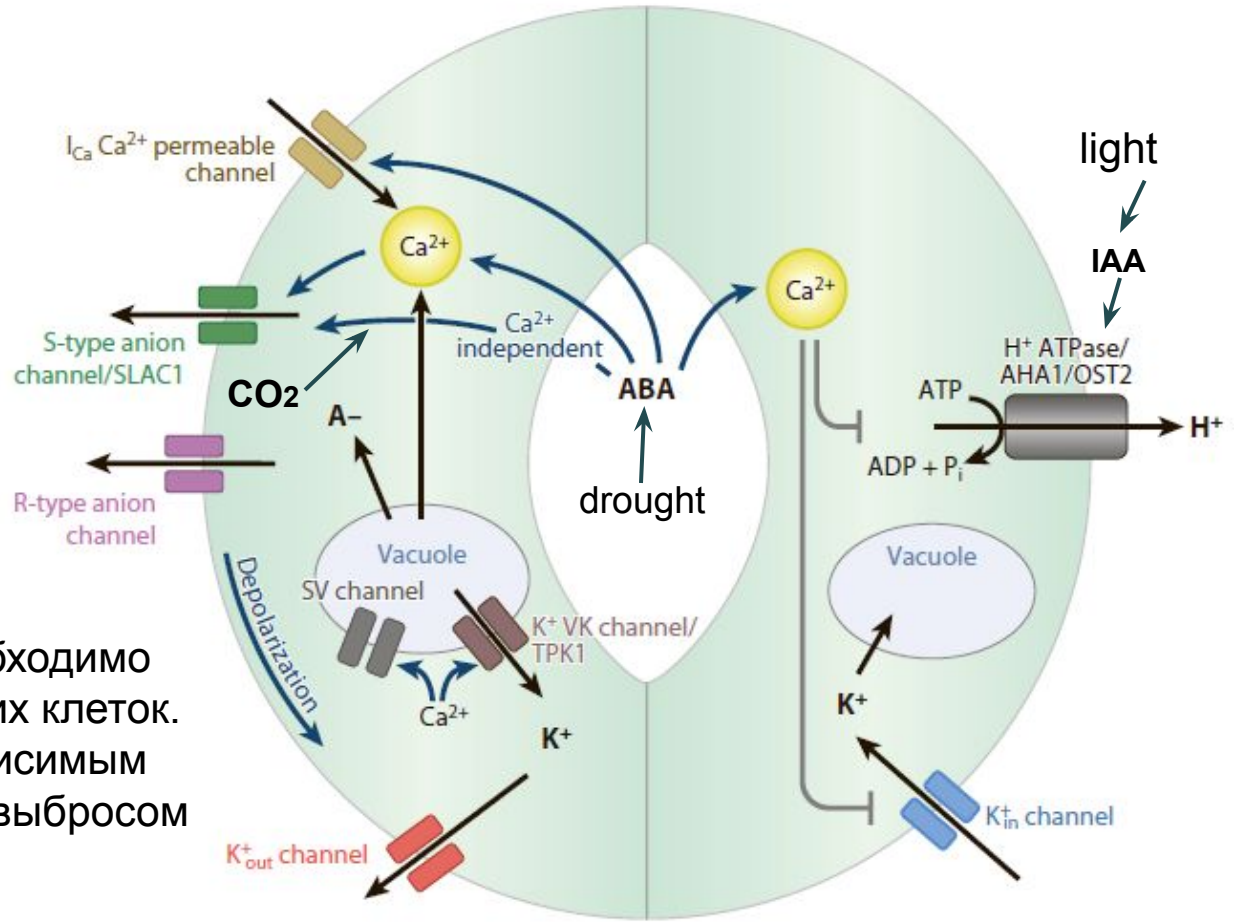


Физиологические
функции АБК:
Контроль
периода покоя
семян и
старения

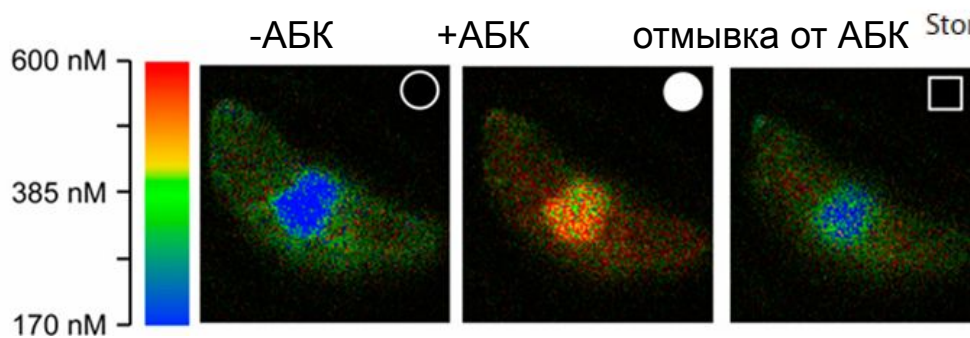
Взаимодействие гормонов в контроле старения листьев



Физиологические функции АБК: Контроль замыкания устьиц



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



Stomatal closing Stomatal opening

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

Физиологические функции АБК: Контроль замыкания устьиц

В отсутствии АБК

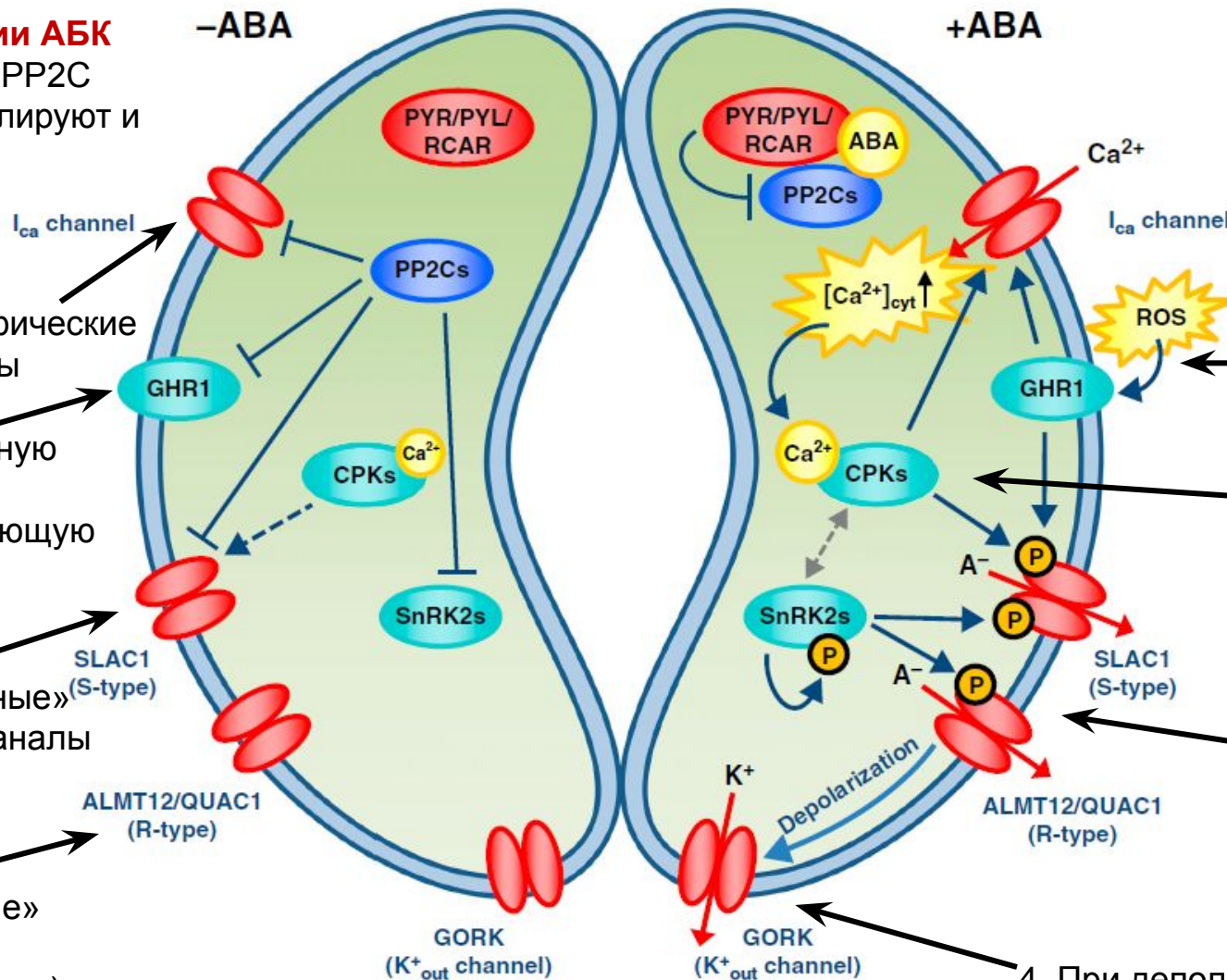
фосфатазы PP2C дефосфорилируют и ингибируют:

1. Неспецифические Ca²⁺ 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 Ca²⁺ 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⁺ каналы