

Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Гены фотоморфогенеза и регуляция их экспрессии светом

В. А. Цыганкова, Л. А. Галкина, Л. И. Мусатенко, К. М. Сытник

Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины
Ул. Мурманская, 1, 02094, Киев, Украина

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины
Ул. Терещенковская, 2, 01004, Киев, Украина

Обзор посвящен анализу литературных данных, раскрывающих механизмы восприятия клетками растений световых сигналов и реализации их на генетическом уровне. Приведены физиолого-биохимические характеристики фоторецепторов — эффекторов, воспринимающих световой сигнал, и их классификация в соответствии с функциональной ролью: 1) фитохромов, поглощающих красный/дальний красный свет, и хлорофилла, воспринимающего красный свет; 2) криптохромов, фототропинов и каротиноидов, селективно поглощающих синий/УФ-А/УФ-В свет, а также данные о генах, кодирующих фоторецепторы фитохромов (PHYA—PHYE гены), криптохромы (CRY1 и CRY2 гены) и фототропины (NPH и NPL1 гены) у Arabidopsis. Основное внимание в обзоре уделено рассмотрению конкретных генов, экспрессия которых регулируется световыми сигналами посредством фитохрома А (PHY1, PHY3, SPA1, FIN2, FIN219, FAR1 гены), фитохрома В (RED1, PEF2, PEF3, PKS1, ATHB-2 гены), а также обоими видами фитохромов: как А, так и В (PEF1, PSI2, PIF3, NDPK2, HY5, Elp гены). Представлены данные об открытии новых генов — COP1, DET1, COP9, COP10 и SHL — негативных регуляторов морфогенеза в темноте, экспрессия которых регулируется двумя классами фоторецепторов — как фитохромами, так и криптохромами, а также сведения об идентификации многочисленной группы генов — сигнальных элементов физиологических часов (эндогенного осциллятора): ZTL, FKF1, LKP2, TOC1, CCA1, LHY, ELF3, GL, PHYA—PHYE, CRY1 и CRY2 генов, передающих на осциллятор сигналы внешней среды, и CAB2, CCR2, CAT3, psbA, psbD и др. генов, воспринимающих поступающую с осциллятора информацию. Представлены также доказательства существования сигнальных взаимодействий между фитохромами и фитогормонами.

Известно, что рост и развитие растений контролируется генетическими детерминантами, продуктами их экспрессии и сигналами внешней среды. К числу главных внешних факторов, оказывающих наибольшее влияние на морфогенетические процессы в клетках растений, относится свет. Физиологические эффекты световых сигналов весьма дифференцированы: свет является уникальным источником энергии, обеспечивающим фотосинтез; он оказывает мощное стимулирующее влияние на морфогенез растений, начиная с деэтиоляции и при дальнейшем переходе к репродуктивному развитию

[1—3]; индуцирует такие физиологические процессы, как дыхание и прорастание семян, образование корневичек и клубней, формирование цветков и сексуализацию, опадение листьев и переход почек в состояние покоя. Действие света на этиоляцию является сложным и включает влияние на рост растяжением клеток листьев и междоузлий, на образование настоящих листьев из чешуевидных низовых листьев, на раскрытие крючковидного перышка у проростков. Например, скотоморфогенетические (растущие в темноте) проростки характеризуются удлинёнными гипокотильями, нераскрытыми семядолями на апикальном крючке и нефотосинтетическими этиопластидами. Противоположный

фенотип наблюдается у фотоморфогенетических проростков, имеющих короткие гипокотили, раскрытые семядоли и фотосинтетически активные хлоропласты.

Кроме позитивного влияния на рост и развитие растений, свет может оказывать и повреждающее воздействие: его избыточное количество, аккумуляемое фотосинтетическим аппаратом, способствует образованию токсичных соединений, например, активного кислорода [4]. Вследствие эволюционной адаптации к изменяющимся и экстремальным условиям освещенности растения имеют усложненную фотосенсорную сеть, специализированную для максимализации процесса фотосинтеза при ограничении до минимума повреждающего воздействия света. Один из основных механизмов эндогенного контроля роста и дифференциации клеток при различных условиях освещенности связан с регуляцией экспрессии генов.

Экспрессия светорегулируемых генов у растений контролируется различными классами фоторецепторов, действующих через разные сигнальные молекулы. В детекции интенсивности, направления, длительности излучения и длины световолн участвуют два обширных класса фоторецепторов [1—6]: 1) абсорбирующие красный и дальний красный свет фитохромы и воспринимающий красный свет хлорофилл; 2) селективно абсорбирующие синий/УФ-А/УФ-В свет фоторецепторы: криптохромы, фототропин (ключевой рецептор фототропизма) и каротиноиды.

Основную роль в регуляции морфогенетических процессов выполняют фоторецепторы: фитохромы, криптохромы и фототропин.

Впервые фитохромы выделены в начале 20-х годов XX столетия и идентифицированы как пигменты, не обладающие фотосинтетической активностью и вовлеченные в фотопериодическую детекцию и индукцию цветения [7]. Однако природа и химическая структура этих пигментов оставалась неизвестной в течение последующих 30 лет. В начале 50-х годов прошлого столетия фитохромы были охарактеризованы как фоторецепторы, контролирующие прорастание семян растений при освещении красным и дальним красным светом [8]. Открытая в те годы физиологическая ответная реакция прорастающих семян растений на стимулирующее действие красного света и ингибирующее влияние дальнего красного света выявила участие фитохромов в регуляции роста и развития растений.

Химическое строение фитохромов впервые ус-

тановлено в конце 50-х—начале 60-х годов [9]. Согласно существующей в настоящее время химической номенклатуре [3], фитохром представляет собой хромопротеид, пигментная часть которого является линейным незамкнутым тетрапирролом — хромофором (принадлежащим к классу фикобилинов), соединенным ковалентной связью с субъединицами апопротеинов, кодируемых многочисленной семьей генов (например, *PHYA—PHYE* гены у *Arabidopsis*). *In vivo* фитохромы, в основном, находятся в форме тетра- и гексамеров, состоящих из мономеров с молекулярной массой 42 кДа. Фитохромы в клетках растений синтезируются в абсорбирующей красный свет Pr форме ($\lambda_{\max} = 660$ нм), фототрансформирующейся при освещении красным светом в активную абсорбирующую дальний красный свет Pfr форму ($\lambda_{\max} = 730$ нм), которая под действием дальнего красного света быстро превращается в неактивную Pr форму [3, 10]. В темноте этот процесс длится самопроизвольно 4—24 ч, причем значительная часть фитохрома может разрушаться. Pr₆₆₀ форма фитохромов содержит на один протон больше, чем Pfr₇₃₀ форма, что сказывается на конформации хромофора и той области белка, с которой он связан, и вызывает разнообразные физиологические эффекты [3]. Как свидетельствуют данные многочисленных исследований, фитохромы обнаружены во всех таксономических группах низших и высших растений [11], а также у цианобактерий [12].

Взаимосвязь между фитохромами и эндогенными программами развития. Влияние фитохромов на рост и развитие клеток проявляется в регуляции движения хлоропластов, изменении проницаемости мембран, синтезе ферментов и фитогормонов — ауксинов, гиббереллинов и цитокининов [1—3]. Фитохромы контролируют жизненный цикл растений, начиная с прорастания семян и последующей деэтиоляции проростков (т. е. при переходе из роста в темноте к росту на свету). Они опосредуют эффекты красного/дальнего красного света на элонгацию листа/семядоли, междоузлий стебля, распрямления крючка эпикотилия, регулируя деление и растяжение клеток; способствуют восприятию растениями темноты или факторов, ограничивающих рост, контролируют процессы фототропизма, фотонастий, фототаксисов и восприятия фотопериодических сигналов, а также влияют на переход в фазу цветения.

Детальные исследования фитохром-опосредованных процессов, проведенные в последние годы, позволили предложить, по меньшей мере, три раз-

личных типа физиологических ответных реакций растений на воздействие красного/дальнего красного света: LFRs (low fluence responses), VLFRs (very-low-fluence responses), HIRs (high-irradiance responses) [3, 13]. Как оказалось, основным фактором, вызывающим дифференцированные ответные реакции растений, является параметр интенсивности освещения, магнитуда которого варьирует до восьми порядков. Выяснено, что ответная реакция у VLFRs растений наблюдается в пределах 0,1—1 мкмоль/м² света, в то время как LFRs растения реагируют на освещение, интенсивность которого находится в пределах 1—1000 мкмоль/м². У HIRs растений ответная реакция стимулируется освещенностью 1000 мкмоль/м² света, хотя именно спектр излучения, а не общее количество света влияют на рост и развитие растений.

Ответные реакции на воздействие красного/дальнего красного (R/FR) света описаны у многих видов LFRs растений. Наиболее распространенными физиологическими эффектами, которые стимулируются красным светом у LFRs растений, являются: прорастание семян (например, латука), изменения в потоке ионов, ротации хлоропластов [3, 13, 14]; изменение экспрессии генов в периоды деэтиоляции, элонгации стебля, листьев и перехода к цветению [13, 15]. Необходимо отметить, что хотя эти эффекты индуцируются красным и ингибируются дальним красным светом, однако в обычных условиях растения не освещаются простым монохроматическим светом. В действительности растения реагируют на соотношение красного/дальнего красного света и соответственно проявляют ответные физиологические реакции. При изменении соотношения в пользу дальнего красного/красного (FR/R) света в зависимости от своей ответной реакции LFRs растения подразделяются на два подвида [3]: 1) имеющие короткодневную ответную реакцию на воздействие дальнего красного света и 2) растения с синдромом избегания тени. У растений первого подвида при освещении дальним красным светом в темноте наблюдается цветение. Синдром избегания тени возникает у второго подвида растений при освещении дальним красным светом, проходящим сквозь верхние ярусы или розетки листьев либо отраженным от соседних близкорасположенных листьев, и является приспособительным механизмом для определения каких-либо находящихся вблизи предметов или соседних растений. Ответная физиологическая реакция обоих подвидов растений проявляется в удлинении стеблей и увеличении уровня соотношения длины к

ширине листьев. Поскольку морфология растений подобна в каждом случае, эти две разновидности реакций часто рассматриваются как один феномен. Оба физиологических ответа контролируются через фитохромы соотношением красного/дальнего красного (R/FR) света и являются наиболее важными функциями фитохромов среди распространенных в природе [16].

В отличие от LFRs растений, ответная реакция у VLFRs не является обратимой (т. е. двусторонней) при последовательных импульсах красного/дальнего красного освещения. Примером этой реакции служит прорастание семян VLFRs растений при очень низком уровне освещения [17], а также некоторые светоиндуцируемые изменения в экспрессии генов [18, 19].

HIRs растения в противоположность LFRs растениям проявляют ответную реакцию преимущественно на воздействие дальнего красного света, несмотря на то, что это освещение стимулирует образование неактивной формы фитохрома. Хорошо изученным аспектом является влияние дальнего красного света на прорастание семян у некоторых видов растений. Например, известно, что семена *Arabidopsis* после замачивания и набухания прорастают в темноте без индукции световыми импульсами. Причем степень прорастания определяется возрастом семян и условиями, в которых росли родительские виды растений. В зависимости от этих факторов продолжительное освещение дальним красным светом может или стимулировать, или ингибировать прорастание семян [20].

Проведенные недавно исследования показали, что у HIRs растений обнаружены короткосуществующие промежуточные формы фитохрома, образующиеся при фотоконверсии Pfr/Pr форм фитохрома, которая происходит при последовательном воздействии дальнего красного/красного (FR/R) света. Интересно, что этот ответ является FR/R обратимым, однако не может быть R/FR обратимым, как это наблюдается у LFRs растений (например, ингибирование дальним красным светом экспрессии свето регулируемых генов у прорастающих семян латука) [13].

Фоторегуляция экспрессии генов фоторецепторов. Как правило, анализ экспрессии генов на разных стадиях онтогенеза растений проводится с использованием мутантных клеток, дефектных по биосинтезу и метаболизму соединений, выполняющих важную роль в морфогенезе растений. В настоящее время широко используют два вида генетического анализа: эпистатический [21] и мозаич-

ный [22]. С помощью эпистатического анализа определяют доминирующий (эпистатический) фенотип одной мутации по отношению к другой и выясняют, являются мутации генетически разнонаправленными либо однонаправленными. Для определения функциональной и регуляторной автономии генов используют мозаичный генетический анализ, согласно которому изучают варианты с различными генотипами по характеру одного и того же сходного либо отличающихся фенотипов.

Ввиду многообразия существующих у растений форм фитохромов для более полного выяснения роли каждого из них в фотоморфогенезе многочисленными исследованиями были посвящены генетическому анализу мутантных растений с нарушенным синтезом апопротеинов фитохромов. С помощью генетического анализа идентифицированы и клонированы многочисленные гены апопротеинов фитохромов [3, 23]. Согласно результатам изучения, проведенного спектрофотометрическими методами, существуют, по меньшей мере, два различных пула фитохромов [24]. К первому относится светочувствительный тип фитохромов, быстро деградирующий в течение полчасового воздействия красным или белым светом в зависимости от вида растения; ко второму — устойчивый светостабильный тип фитохромов, период существования которого в три—четыре раза продолжительнее, чем первого типа. Например, у высших растений идентифицированы пять различных видов фитохромов, условно названных *phyA*—*phyE*; как выяснено, *phyA* принадлежит к первому типу фитохромов, тогда как остальные (*phyB*—*phyE*) по своей биологической активности относятся ко второму типу фитохромов [3, 23—25].

Например, у *Arabidopsis* обнаружено, что *phyA* и *phyB* выполняют антагонистические функции на протяжении всего развития растения [3—6, 19, 23]. В этилированных растущих в темноте проростках преобладает фотолабильный *phyA* фитохром, опосредующий ответные сигналы на воздействие низких частот преимущественно дальнего красного света и незначительно — красного и синего света. Красный свет стимулирует у растения фотоконверсию неактивной *phyA* Pr в активную *phyA* Pfr форму с низкой стабильностью [26]. Обнаружено, что промотор *PHYA* гена *Arabidopsis* имеет три стартовых транскрипционных сайта, экспрессия *PHYA* гена негативно регулируется светом, репрессия возникает на транскрипционном уровне сразу же после поступления световых сигналов и проявляется в снижении уровня синтеза фитохромов.

Следовательно, биосинтез *phyA* белков регулируется и координируется светом на транскрипционном и, как показано, на посттрансляционном уровнях [27]. Обнаружено, что *phyA* играет важную роль в регулируемом дальним красным светом прорастании семян [28] и деэтиоляции (на свету *phyA* ингибирует элонгацию гипокотилей развивающихся проростков) [29], в процессе избегания тени [30], контролирует циркадные (суточные) ритмы [31] и время цветения растений [32].

В выросших на свету зеленых проростках растений *phyB* является доминантным фоторецептором, тогда как *phyC*—*phyE* относятся к менее значимым светостабильным типам фитохромов [3, 33]. *phyB* опосредует ответные реакции на воздействие низких и высоких частот преимущественно красного света и незначительно — дальнего красного света. Обнаружено также, что все три вида фитохромов (*phyB*, *phyD*, *phyE*) растений играют важную роль в регуляции физиологического процесса избегания тени [34, 35], а фитохром C контролирует преимущественно элонгацию листьев и время цветения [36]. Как показал генетический анализ растений *Arabidopsis*, имеющих нулевые мутации различных фитохромов, наиболее преобладающим является *phyB* [3].

Мутации *PHYB* оказывают влияние на развитие растений на протяжении всего жизненного цикла. Например, в ответ на продолжительное освещение красным или белым светом *phyB* мутантные проростки имеют удлинённый гипокотиль (на свету у диких типов растений *phyB* ингибирует элонгацию гипокотилей развивающихся проростков) и маленькие семядоли, у них также отмечено более низкое содержание антоциана, хлорофилла и меньшее количество хлоропластов по сравнению с дикими типами растений. У взрослых *phyB* мутантных растений *Arabidopsis* наблюдается раннее цветение при коротком дне (как известно, *Arabidopsis* является факультативным длиннодневным растением, раннецветущим в условиях длинного дня и позднецветущим при коротком дне), они имеют удлинённые листовые черешки и стебли и усиленное апикальное доминирование. Аналогичные аномальные фенотипы имеют и другие виды *phyB* мутантных растений, например, огурец, горох, томат и капуста [3]. К многочисленным физиологическим реакциям, которые регулирует *phyB*, относится также растяжение клеток. Обнаружено, что в клетках гипокотилея *Arabidopsis*, *phyB* влияет на эндоредупликацию ядра, а также контролирует размер клеток при их росте растяжением [37].

Кроме того, у *phyB* мутантных растений наблюдается конститутивный синдром избегания тени и нарушение короткодневной реакции в ответ на дальний красный свет. Это свидетельствует в пользу того, что существенную роль в регуляции упомянутых процессов выполняет фитохром В [3]. Однако как *phyB* мутанты, так и двойные *phyA phyB* мутантные растения все же проявляют ответную реакцию даже на низкоинтенсивное красное/дальнее красное освещение, что указывает на участие и других видов фитохромов в развитии растений [38]. Этот факт подтверждается отсутствием ответной реакции у *phyE* мутантных растений на такой же спектр освещения.

На основании генетического анализа изучена и расшифрована вся сеть комплексных взаимодействий не только между фитохромами, но и между фитохромами и фоторецепторами синего света — криптохромами. Криптохромы растений — это хромопротеины, содержащие флавинадениндинуклеотид (ФАД) и птерин и имеющие значительную степень гомологии с ДНК фотолиазами, относящимися к семейству белков, катализирующих восстановление поврежденной УФ-светом ДНК [23, 39]. Однако криптохромы имеют различные С-терминальные домены ССТ1 (отсутствующие у фотолиаз) и не проявляют фотолиазной активности. Криптохромы поглощают синюю область спектра.

В настоящее время у *Arabidopsis* идентифицированы два вида криптохромов: Cry1 и Cry2. Cry1 является фоторецептором синего/УФ-А света, модулирующим рост растений при среднем и высокоинтенсивном излучении. Cry1 относительно стабилен на свету. Фоторецептор Cry2 нестабилен и быстро деградирует под влиянием синего света высокой интенсивности, он функционирует преимущественно при низкой интенсивности излучения синего света.

Многочисленные данные свидетельствуют о функциональном взаимодействии между криптохромами и фитохромами. Например, двойные *phyA phyB* мутантные растения *Arabidopsis* имеют фенотип, проявляющийся в ярко выраженной ответной реакции на воздействие синего света; более того, у трансгенных растений *Arabidopsis* криптохром Cry1 может фосфорилироваться протеинкиназой овса — фитохромом *phyA*, а селективные мутантные *cry1* аллели определяют раннецветущий фенотип, подобный *phyB* мутантам.

Считается также, что позднецветущий фенотип *cry2* мутантов *Arabidopsis* является отражением того факта, что у диких типов растений CRY2

белки оказывают негативное влияние на проведение *phyB* сигналов [39, 40].

В то же время с помощью детального генетического анализа растений, несущих нулевые мутации в многочисленных фитохромах и криптохромах, получены данные, доказывающие, что криптохромы могут проявлять функциональную активность независимо от фитохромов [41]. Как было показано, мутантные по фитохромам растения имеют опосредованные воздействием синего света дефекты в ингибировании элонгации гипокотыля, растяжении семядолей, прорастании семян, а также дефекты в светоиндуцируемом сжатии протопластов гипокотыля и синтезе антоцианов [3—6, 17, 42]. Более того, эти исследования демонстрируют комплексную сеть взаимодействий между двумя классами фоторецепторов, включая преобладающее влияние одного из этих классов, антагонизм между ними и взаимодействия по типу эффектор/модулятор [40, 42]. Тип взаимоотношений эффектор/модулятор указывает на ситуацию, при которой фоторецепторы не могут контролировать ответную реакцию роста независимо; этот процесс осуществляется лишь при условии, если один из рецепторов функционирует под контролем других фоторецепторов.

Например, идентифицирован еще один поглощающий синий свет и контролирующий фототропизм рецептор — фототропин, кодируемый *NPH1* геном (*nonphototropic hypocotyl 1 gene*) [43]. Однако показано, что фитохромы также могут модулировать этот процесс [44]. По данным экспериментов, включающих предварительную обработку растений красным светом с широким диапазоном интенсивности излучения с последующим облучением моноинтенсивным синим светом, фитохромы могут выполнять роль запрограммированных амплификаторов в фототропин-опосредованном процессе роста [45].

Недавно из клеток протонемы папоротника *Adiantum* изолирован новый, гомологичный фототропину фоторецептор, кодируемый геном *NPL1* (*NPH-like 1*) [46]. Как выяснилось, этот единственный рецептор выполняет двойственные функции, присущие как фитохромам, так и фототропинам, т. е. самостоятельно контролирует процесс фототропизма в ответ на действие и синего, и красного света. Кроме того, *NPL1* рецептор в хлоропластах контролирует ответную реакцию избегания интенсивного синего света [47]. Аналогичный рецептор обнаружен и у других видов растений [3, 4].

Субклеточная локализация фитохромов. Свет регулирует функциональную активность фитохромов, изменяя их клеточную локализацию. Как показал проведенный иммунологический анализ, *phyA* в основном синтезируется в растущих в темноте тканях и локализуется преимущественно в цитоплазме [48]; в то же время обнаружено, что значительные количества *phyB* присутствуют и в ядрах растений, растущих на свету [49]. Эти данные недавно были подтверждены и детализированы при помощи генетических конструкций *phyA-GFP* и *phyB-GFP* белков, полученных генно-инженерными методами [3, 50, 51]. Результаты этих исследований выявили, что оба вида фитохрома — *phyA* и *phyB* локализируются в цитоплазме в клетках растущих в темноте растений, однако освещение растений стимулирует и регулирует транслокацию этих фоторецепторов в ядро клетки.

Полученные данные свидетельствуют о регулируемом светом транспорте этих рецепторов в ядро, что является ключевым элементом сигнальных путей фитохромов. Несомненно, представляют интерес и данные о подобии структур, которые формируются в ядрах генетически сконструированных *phyA-GFP* и *phyB-GFP* белков, со структурами, образованными факторами транскрипции и процессинга РНК в клетках животных [52]. Однако следует отметить, что каждый из этих генетически сконструированных либо *phyA-GFP*, либо *phyB-GFP* белков экспрессируется под сильным 35S конститутивным промотором, вследствие чего возникло предположение о том, что ядерные структуры могут быть артефактом сверхэкспрессии. Например, образования этих структур не наблюдалось, когда *phyA-GFP* белок экспрессировался под контролем эндогенного умеренной силы *phyA* промотора, несмотря на ядерную локализацию этих белков и их способность восстанавливать фенотип у *phyA* нулевых мутантов.

Кинетика транслокации *phyA* и *phyB* белков в ядро клеток различна, чем и объясняются различия в их биологической активности [50]. Показано, что ядерная транслокация *phyB* происходит только в виде Pfg конформации фитохрома, в состав которой входит нефотоконвертируемый хромофор фикозритробилин. В отличие от *phyB*, *phyA* мигрирует в ядро в виде Pr конфигурации даже в присутствии дальнего красного света [50, 53]. Необходимо подчеркнуть, что светоиндуцируемая Pr → Pfg трансформация происходит очень быстро; несмотря на это, *phyB* фитохрому требуется несколько часов, чтобы аккумулироваться в заметных количествах в

ядре. Этим и объясняется присутствие Pfg формы *phyB* одновременно в цитоплазматическом и в ядерном компартментах [50, 51]. Более того, многие ответные реакции, контролируемые фитохромами, такие как деполяризация мембран или изменения в скорости роста гипокотыля, возникают в течение нескольких минут под влиянием излучения света. Следовательно, кроме ядра, существуют другие сайты действия фитохромов. Pr форма фитохрома обнаружена также в митохондриях, пластидах, однако отсутствует в вакуолях [2]. При облучении красным светом Pr трансформируется в Pfg форму фитохромов, которая присутствует в мембранах и, прежде всего, в плазмалемме.

Молекулярные свойства фитохромов. У растений наиболее преобладающим пигментом фитохромов является фикохромобилин (PФВ), участвующий в восприятии Pr/Pfg света; другим также широко распространенным пигментом, играющим важную роль в восприятии фитохромом сигналов как Pr/Pfg спектров, так и синего света, является фикоцианобилин (PCB) [54]. Точкой инициации (или стартовой точкой) биосинтеза хромофора является гем. Оксигеназа гема (кодируемая геном *HY1* у *Arabidopsis*) конвертирует гем в билливердин IX α , который затем конвертируется в 3E-PФВ с участием PФВ синтазы [55]. На заключительном этапе биосинтеза хромофора происходит его изомеризация с образованием 3Z-PФВ.

Аминотерминальная последовательность фитохромов [3] необходима для соединения с хромофором и для проявления фитохромами нормальных спектральных свойств (рис. 1). Карбокситерминальная последовательность может рассматриваться как выводной (output) домен и, как обнаружено, образуется в результате дубликации доменов, подобных бактериальной гистидинкиназе [12]. Первый из этих доменов содержит два повтора (или повторяющихся звена), гомологичных PER-ARN-T-SIM (PAS) [56], первоначально идентифицированных в основных так называемых спиралях-петлях-спиралях (helix-loop-helix) KHLH, содержащих факторы транскрипции, обнаруженные у мух (PER и SIM) и млекопитающих (ARNТ и АНR) [57]. Эти модули, выявленные у разнообразных организмов, выполняют важную сигнальную роль в межбелковых взаимодействиях, в ответных реакциях на изменения условий освещения, уровня кислорода и редокс-потенциала [58]. О важности PAS домена для функционирования фитохромов можно судить на примере *phyB-101* мутаций во втором повторе PAS домена. Эти мутации влияют на

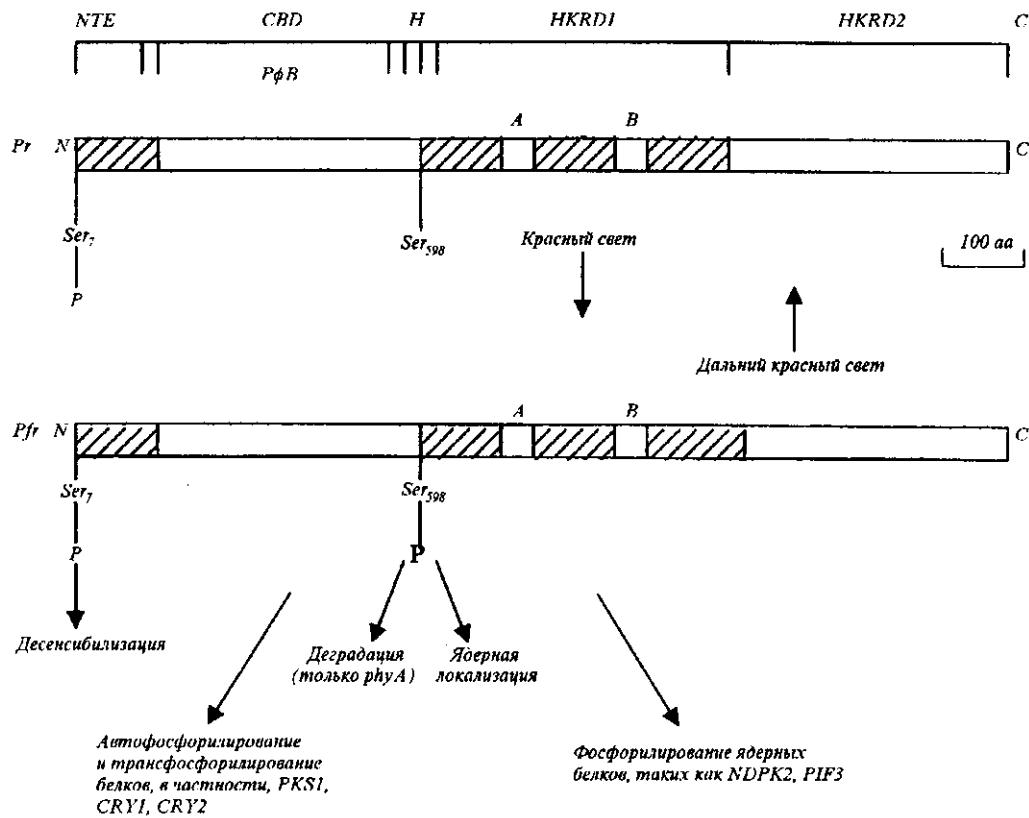


Рис. 1. Схематическое изображение Pfr и Pr форм фитохрома [3]: NTE или N — аминоконцевая последовательность; CBD — хромофорсвязывающий домен; PФВ — фитохромобилин; H — петлевидная область; C — карбоксиконцевая последовательность; HKRD1 и HKRD2 — подобные бактериальной гистидинкиназе домены; A, B — PAS домены. Показано, как изменяются свойства фитохрома под влиянием света (выяснено, что rhuB поступает в ядро только в Pfr форме, а rhuA может присутствовать в ядре в двух формах: как в Pfr, так и в фотоциклической Pr форме)

спектральные свойства пигмента, вызывая ускоренную фотоконверсию Pfr в Pr форму фитохрома и, как следствие, нарушение короткодневной реакции на дальний красный свет у проростков разных растений [59].

Открытия последних лет свидетельствуют о том, что фитохромы присутствуют не только у растений. Как выяснено, они универсальны, обнаружены у про- и эукариотов и функционируют как светорегулируемые протеинкиназы [11, 12]. Возникают вопросы: что же является каталитическим доменом фитохромкиназы? Действительно ли фитохромы, различающиеся своими функциями *in vivo*, фосфорилируют разнообразные субстраты? И, наконец, каков биологический смысл (или значение) этой активности? Выявлено, что на свету происходит автофосфорилирование фитохромов. Например, изолированный из растений rhuA является фосфопротеином, у которого по меньшей мере одна субъединица апопротеина — серин — фосфорилирована под действием света. Это свидетельст-

вует в пользу того, что фосфорилирование упомянутой субъединицы происходит либо в процессе автофосфорилирования, либо вследствие фосфорилирования другим фитохромом [60]. Как показано, серин является преобладающим фосфоакцепторным сайтом, идентифицированным фосфорилированием *in vitro*.

Определены также субстраты, фосфорилирование которых осуществляют фитохромы. Исследования киназной активности фоторецепторов синего света криптохромов (cry1 и cry2) [61] показали, что эти рецепторы не автофосфорилируются светозависимым образом *in vitro*. Однако данные анализа *in vivo* выявили, что фосфорилирование cry1 стимулируется красным светом. Полученные результаты указывают на непосредственное участие фитохромов в фосфорилировании криптохромов.

В последнее время найдены и другие фитохромкиназные субстраты. Например, исследования *in vivo* показали, что фосфорилирование фитохромкиназного субстрата (PKS1) происходит светозави-

симым образом, свидетельствуя в пользу того, что фитохром является киназой, фосфорилирующей PKS1 [62]. PKS1 идентифицирован первоначально как протеин, взаимодействующий с карбокситерминальной последовательностью *phyA*, позднее обнаружено, что он также взаимодействует с карбокситерминальной последовательностью *phyB*. По фенотипу растений, гиперэкспрессирующих PKS1, можно сделать вывод о том, что PKS1 является негативным регулятором *phyB* сигналов. Результаты экспериментов с использованием в качестве маркера зеленого флуоресцентного белка медузы GFP, слитого с PKS1, выявили, что PKS1 является цитоплазматическим белком [62].

Сигнальные компоненты фитохромов. Согласно существующим в настоящее время гипотетическим моделям механизма действия фитохрома на молекулярном уровне, первичные ответные реакции, вызванные сигналами фитохромов, связаны с изменением мембранной проницаемости, а вторичные — с активацией хромосомного аппарата и ферментативной активности.

Результаты физиологических исследований свидетельствуют о том, что фитохромы оказывают прямое влияние на ионный поток в плазматической мембране [63]. Как известно, в этиолированных тканях фитохромы прямо участвуют в быстром изменении мембранного потенциала, возникающего под действием света [64]. С другой стороны, существуют данные, доказывающие прямое участие фитохромов в светоиндуцируемой электрической ответной реакции (например, движение хлоропластов и ионный поток) у зеленых растений [3, 65], несмотря на то, что этот процесс в основном зависит от присутствия хлоропластов и осуществляемого ими фотосинтеза. Эксперименты с применением ингибиторов и экзогенного кальция показали, что Ca также играет важную роль во многих светоиндуцируемых процессах, включая прорастание спор папоротника *Dryopteris* [66], и в стимулированном дальним красным светом набухании этиолированных протопластов листьев пшеницы [67].

С помощью фармакологических методов, включающих микроинъекции предполагаемых вторичных мессенджеров в мутантные растения томата с нарушенным синтезом фитохромов, идентифицированы ранние, опосредующие сигналы фитохромов, компоненты: гетеротримерные G белки, cGMP и кальций [68]. Как выяснилось, эти вторичные мессенджеры индуцируют биосинтез хлорофилла и антоциана, влияя на экспрессию многих светорегулируемых генов, таких как *FNR* (кодирует ферре-

доксин NADP⁺ оксиредуктазу), *CHS* (кодирует халконсинтазу), *CAB* (кодирует хлорофилл a, b-связывающие белки); кроме того, обнаружено их ингибирующее действие на экспрессию *AST* гена (кодирует аспарагинсинтазу).

Многочисленные данные показали, что фитохромы, являющиеся по своей природе протеинкиназами, опосредуют свои сигналы через светорегулируемое фосфорилирование белков; к настоящему времени идентифицировано большое число белков-субстратов для фитохромкиназной активности. Поэтому представлялось важным выяснить, взаимодействуют ли эти белки непосредственно с фитохромом. С помощью молекулярно-биологического анализа с использованием дигибридных скрещиваний у грибов [3] идентифицировано несколько компонентов, взаимодействующих с фитохромом (рис. 2): фитохромкиназный субстрат (PKS1) и нуклеозиддифосфаткиназа 2 (NDPK2), взаимодействующая с карбокситерминальной последовательностью *phyA* [69]. Обнаружена прямая зависимость возрастания NDPK2 активности при ее взаимодействии с Pfr формой *phyA*. Исследования также показали, что растения, гиперэкспрессирующие PKS1, имеют длинные гипокотили при освещении красным светом. Как выяснено, PKS1 является негативным регулятором сигналов *phyB*, и его экспрессия строго контролируется *phyB*. В противоположность PKS1, NDPK2 является позитивным регулятором сигналов *phyA* и *phyB*, однако на элонгацию гипокотилей этот регуляторный компонент не влияет. Так, например, *ndpk2* мутанты имеют значительно меньшее позеленение семян и отставание в сроках проклевывания крючка гипокотилия из семян, кроме того, у этих мутантов нарушен ответ на освещение красным и дальним красным светом, что доказывает взаимодействие *in vivo* NDPK2 как с *phyA*, так и с *phyB* [69]. Поскольку экспрессия *NDPK2-GFP* генетических конструкций наблюдается в ядре и в цитоплазме клеток табака, сделан вывод о том, что фитохромы могут взаимодействовать с NDPK2 как в цитоплазме, так и в ядре. Показано также, что красный свет стимулирует фосфорилирование NDPK2 *in vivo*, доказывая тот факт, что NDPK2 является субстратом для фитохромкиназной активности [70]. Важность PAS домена для функционирования фитохрома четко установлена: NDPK2 не может взаимодействовать с *phyA*, мутированным в одном из двух PAS повторов.

Третьим взаимодействующим с фитохромами компонентом является локализованный в ядре

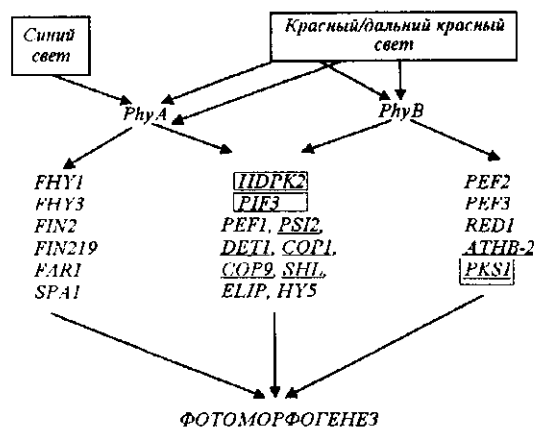


Рис. 2. Сигнальные посредники фитохромов [3]. Гены, кодирующие взаимодействующие с фитохромами белки, заключены в рамку, негативные регуляторы сигналов фитохромов подчеркнуты. На диаграмме представлена лишь условная классификация сигнальных компонентов фитохромов. Например, *PKS1* может взаимодействовать как с *phyA*, так и с *phyB* фитохромами, однако он является ингибитором только *phyB* сигналов. Многочисленные фитохромы влияют на экспрессию гена *ATHB-2*, но *ATHB-2* является негативным регулятором только II типа фитохромов (*phyB*). Изображены также сигнальные компоненты лишь двух видов фитохромов: *phyA* и *phyB*, при этом некоторые из представленных генов служат регуляторами сигналов и других видов фитохромов: *phyC*, *phyD*, *phyE*, а также криптохромов *cry1* и *cry2*

bHLH-содержащий транскрипционный фактор PIF3, изолированный посредством его связывания как с *phyA*, так и с *phyB* в дигибридной системе грибов [3]. Растения, у которых снижен синтез PIF3 белка, являются дефектными в восприятии сигналов как красного, так и дальнего красного света. Последнее подтверждает предположение о том, что экспрессия *PIF3* гена регулируется обоими *phyA* и *phyB* фоторецепторами [71]. Так же, как и NDPK2, PIF3 не может взаимодействовать с фитохромами, мутированными в PAS доменах. Эти результаты подчеркивают важность PAS домена в проведении сигналов фитохромов, так как мутации в PAS домене оказывают значительный эффект на их спектральные свойства и на способность взаимодействовать со вторичными сигнальными мессенджерами [59]. Представляется также важным вопрос, модифицируется ли PIF3 под воздействием света или его связывание с фитохромом непосредственно модулирует активность этого транскрипционного фактора? Известно, например, что активность белка SCA1, являющегося сигнальным компонентом фитохрома, может модулироваться через фосфорилирование, опосредуемое казеинкиназой 2, но не фитохромом [72].

Методами генетического и молекулярно-биологического анализа идентифицировано большое количество генов, экспрессия которых контролируется фоторецепторами [3]. Выявлены ранние посредники фитохромов, мутации которых можно классифицировать следующим образом: мутации генов, регулируемых 1) фоторецептором *phyA* (гены, дефектные по восприятию дальнего красного света), 2) фитохромом *phyB* (гены, дефектные по восприятию красного света), а также 3) обоими фоторецепторами *phyA* и *phyB* (гены, дефектные по восприятию красного и дальнего красного света) (рис. 2).

Как выяснено, к группе *phyA* регулируемых генов относятся: *FHY1*, *FHY3*, *FIN2*, *SPA1* и *FAR1* гены [73, 74]. По данным генетического анализа, все эти гены, за исключением *SPA1*, являются позитивными элементами в передаче сигналов *phyA*. Мутация *spa1* идентифицирована как супрессорная (доминантная) по отношению к рецессивной *phyA* мутации, поскольку обнаружено, что при мутациях в *SPA1* гене усиливается проведение сигналов фитохрома A [75]. При поисках супрессоров усиленной ответной реакции на воздействие света у гиперэкспрессирующих *phyA* растений идентифицированы *far1* мутации. Ген *FAR1* принадлежит к небольшому семейству генов у *Arabidopsis*; его гомологи найдены и среди других видов растений [74]. По данным транзientной экспрессии сконструированных химерных *GUS* генов, регуляторные гены *SPA1* и *FAR1* имеют ядерную локализацию. В настоящее время обнаружены доказательства прямого регулирующего влияния фитохромов на активность этих генов внутри ядра [6, 69].

Исследования сигнальных механизмов *phyB* открыли новый класс *red*, *pef2*, *pef3* мутантов, специфически реагирующих на сигналы красного света [3]. Растения с данными мутациями имеют общие фенотипические признаки с *phyB* мутантами, такие как раннее цветение при коротком дне, удлиненные черешки и стебли, а также сниженную чувствительность к красному свету [4, 36]. Выяснение молекулярной природы этих генов в дальнейшем приведет к более четкому представлению о сигнальных механизмах *phyB*. Для этого исследовали также *roc1* мутанты с увеличенной ответной реакцией на красный свет. Этот фенотип возникал при T-ДНК трансформации, вызывающей гиперэкспрессию *PIF3* гена. Несмотря на то, что экспрессия *PIF3* гена регулируется обоими видами фитохромов (*phyA* и *phyB*), выросшие на свету *roc1*

мутанты не проявляли усиленной ответной реакции на дальний красный свет [76]. Как было показано, *PIF3* имеет ядерную локализацию и его активность регулируется преимущественно *phyB*. В отличие от всех вышеперечисленных генов, *PKS1* ген, являющийся негативным регулятором *phyB* сигналов, имеет цитоплазматическую локализацию [62]. Другим медиатором ответных реакций *phyB* является белок лейциновой застежки (homeodomain leucine zipper protein) *HAT4/ATHB-2* [77]. Этот транскрипционный фактор играет важную роль в ответной реакции избегания тени. Экспрессия кодирующего упомянутый белок гена регулируется соотношением красного/дальнего красного излучения; как показали исследования, *ATHB-2* является негативным регулятором светозависимой экспрессии генов.

К числу генов, экспрессия которых контролируется как *phyA*, так и *phyB* фоторецепторами, относятся также *PEF1*, *PSI2*, *PIF3*, *NDPK2* и *Elip* (early light-induced protein) гены [3, 6]. Как выяснено, у *pef1*, *pif3* и *ndpk2* мутантов снижена чувствительность к красному и дальнему красному свету, тогда как *psi2* мутанты являются гиперчувствительными к этим же спектрам света [69]. Экспрессия *Elip* генов позитивно регулируется красным, дальним красным и синим светом [4, 78]; обнаружено, что фитохромы А и В участвуют в этой регуляции, в то время как криптохромы и фототропин не опосредуют активации *Elip* генов в ответ на синий свет (что указывает на возможное участие в этом процессе дополнительного рецептора синего света — *NPL1*) [4, 47]. По своей природе *Elip* белки являются ядерно-кодируемыми белками тилакоидной мембраны хлоропластов; транскрипты *Elip* появляются значительно раньше, чем других светоиндуцируемых генов на ранних стадиях деэтиоляции, и исчезают непосредственно перед завершением развития хлоропластов [79]. В зрелых растениях аккумуляция *Elip* белков под воздействием световых сигналов коррелирует с фотоинактивацией фотосистемы II (PSII), деградацией D1 белка и изменением уровней содержания пигментов. Показано, что *Elip* белки связываются с хлорофиллом а и лютеином и функционируют как транзитные пигментные переносчики или белки обмена хлорофилла [80].

Вследствие того, что различные спектры света при взаимодействии с разными фоторецепторами могут вызывать аналогичные ответные реакции, весьма вероятно, что существуют общие более поздние сигнальные посредники фитохромов [3, 6].

Мутанты по таким генам, как предполагают, имеют сходные фенотипы независимо от типа световых сигналов и разделены, в свою очередь, на два класса: 1) мутанты, имеющие фенотип деэтиолированных даже в отсутствие света и 2) мутанты, обладающие гиперчувствительным восприятием различных спектров света низкой интенсивности.

К первому классу относятся *det/cop/fus* (constitutive photomorphogenic/deetiolated/fusca) мутации, являющиеся плейотропными, затрагивающими многие аспекты развития растений. Кодированные этими генами ядерные белки являются поздними сигнальными компонентами [81]. Растущие в темноте *det/cop/fus* мутанты фенотипически подобны растущим на свету нормальным растениям; последующие исследования показали, что у этих мутантов наблюдается конститутивная экспрессия ядерных и хлоропластных генов, участвующих в фотосинтезе (например, *cab*, *rbcS*, *psbA* и *psbB*) [81—83]. Рецессивная природа *det/cop/fus* мутаций свидетельствует о том, что продукты экспрессии этих генов являются негативными регуляторами фотоморфогенеза [6]. С помощью молекулярного и биохимического анализа этой группы генов определены четыре основных гена: *COP1*, *DET1*, *COP10*, а также *COP9* (являющийся сигнасомой и состоящий из восьми различных субъединиц) [82]. Ключевым регуляторным компонентом в опосредованной супрессии фотоморфогенеза в темноте является *COP1* ген, кодирующий белок с карбокситерминальным доменом, имеющий молекулярную массу 76 кДа; его экспрессия негативно регулируется светом [83].

В противоположность фитохромам экспрессия *COP1* преимущественно наблюдается в ядрах клеток гипокотилей растущих в темноте проростков; в то же время на свету происходит снижение экспрессии *COP1* с дальнейшей локализацией его в цитоплазме [6]. Данные недавно проведенных исследований показали, что в ядре *COP1* является негативным регулятором многочисленных транскрипционных факторов, способствующих светорегулируемой экспрессии генов, участвующих в морфогенезе. Эта негативная регуляция сети транскрипционных факторов — мишеней для *COP1* — осуществляется посредством их деградации 26S протеасомой [83]. Показано, что мутации в *COP1* гене являются эпистатическими по отношению к *cru* и *rho* мутациям, выявленным у проростков, растущих как в темноте, так и на свету. Это служит прямым доказательством того факта, что COP белки выступают в роли негативных регуля-

торов проведения светоиндуцируемых сигналов фоторецепторов. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что фитохромы *phyA* и *phyB*, а также криптохромы *cry1* и *cry2* являются главными регуляторами опосредуемой дальним красным, красным и синим светом инактивации *COP1* [39, 84]. Чтобы идентифицировать гены, участвующие в световой инактивации *COP1*, был проведен генетический отбор экстремальных модификаторов мутаций температурочувствительного *cop1* аллеля. В результате выявлена новая *fin219* (*far-red-insensitive 219*) мутация, фенотипически проявляющаяся в удлинении гипокотилей растений при освещении дальним красным светом и напоминаящая *phy1*, *phy3*, *fin2*, *far1* мутанты, дефектные в PHYA сигнальных процессах [73, 74]. Таким образом, в ходе этих исследований открыт новый сигнальный компонент фитохрома *phyA*. Генетический анализ установил прямое взаимодействие FIN219 с другим *phyA* сигнальным компонентом — FHY1 [6]. По данным молекулярно-биологического анализа, FIN219 кодирует белок (имеющий цитоплазматическую локализацию) с высокой степенью гомологии к GH3 семье белков и его экспрессия индуцируется ауксином [85]. В противоположность сниженной чувствительности к дальнему красному свету *fin219* мутантов, гиперэкспрессия FIN219 у растений проявлялась в специфически регулируемом дальним красным светом гиперморфогенетическом ответе. Эти данные свидетельствуют о том, что FIN219 является связующим звеном в стимулируемой дальним красным светом *phyA*-опосредованной инактивации *COP1* гена и в передаче сигналов между ауксинами и фитохромами [6].

Другим не менее значительным супрессорным регуляторным компонентом фотоморфогенеза в темноте является COP9 сигналосома, мультисубъединичный регуляторный комплекс, кодируемый семьей CSN генов [3, 86]. Например, получены данные, что у *Arabidopsis* 6-я субъединица COP9 сигнаლოსомы кодируется двумя генами (*CSN6A* и *CSN6B*); белки, кодируемые этими генами, обнаруживают 87 %-ю идентичность по входящим в их состав аминокислотам и содержат MPR1p и PAD1p N-терминальные (MPN) домены в N-терминальной области. Как было показано, частичное снижение функциональной активности COP9 сигнаლოსомы вследствие антисмысловой косупрессии *CSN6A* проявляется в разнообразных дефектах в развитии растения, включая гомеотическую трансформацию органов, симметричную организацию тела с четко выраженной формой органов.

При последующем блот-анализе белков получены результаты, свидетельствующие об аккумуляции в таких дефектных растениях значительных количеств убиквитинированных (т. е. меченных убиквитином) белков, расщепляющихся протеасомой (комплексом протеолитических ферментов). Это является доказательством того факта, что COP9 сигналосома регулирует многочисленные процессы развития и роста посредством ее взаимодействия со специфическим SCF E3 лигазным комплексом (убиквитин/протеасомой), вследствие чего происходит ускорение деконъюгации RUB1-Cullin комплекса с последующей деградацией белков-мишеней протеасомой [86]. Проведенные генетические и биохимические исследования показали, что одной из мишеней CSN-опосредованной через протеасому деградации белков является транскрипционный фактор, кодируемый геном *HY5* (*long hypocotyl 5*), активирующий под воздействием света экспрессию *Elip* генов [4]. За раскрытие указанного механизма распада белков в клетках организмов ученые А. Цихановер и А. Гершко из Израиля и И. Роуз из США удостоены Нобелевской премии за 2004 год.

Доказательством существования *HY5* контроля *Elip* экспрессии служат, например, следующие данные: дефект активности фотосистемы II у мутантных *hy5* проростков является результатом снижения экспрессии *Elip* генов, активность которых контролируется фитохромами *phyA* и *phyB* [4, 79, 87]. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что на свету *phyA* и *phyB* непосредственно регулируют процесс фотосинтеза: ингибируют активность репрессора фотоморфогенеза COP9, вызывая при этом активацию транскрипционного фактора *HY5*, который, в свою очередь, стимулирует экспрессию *Elip* генов, кодирующих белки тилакоидной мембраны хлоропластов.

При проведении генетического анализа рецессивных мутаций, фенотипически проявляющихся в гиперчувствительной фотоморфогенетической реакции на воздействие низкоинтенсивных излучений белого, красного, дальнего красного, синего, а также зеленого света, идентифицированы восемь комплементарных групп мутантов, обозначенных, как *shl* (*seedlings hyperresponsive to light*) [88]. У всех групп (*shl1—shl8*) мутантов наблюдались ограниченные фенотипические изменения или таковые вообще отсутствовали в темноте. В то же время при воздействии низких частот разных спектров излучения у них отмечено значительное ингибирование элонгации гипокотилей проростков. Полу-

ченные результаты отражают факт существования развитой сверхчувствительности к сигналам, генерирующимся обоими классами фоторецепторов: как фитохромами, так и криптохромами. Поскольку фоторецепторы, кодируемые *PHYA*, *PHYB*, *CRY1* и *CRY2* генами, играют доминирующую роль в фотоморфогенетической реакции ингибирования элонгации гипокотилей в ответ на воздействие дальнего красного, красного и синего света, а другие виды фитохромов (кодируемые *PHYC*, *PHYD* и *PHYE* генами) выполняют вспомогательную роль в разнообразных фотоморфогенетических реакциях, возникающих при освещении красным и дальним красным светом, то фенотипы *shl* мутантов при данных спектрах света зависят от сигналов, генерируемых широким рядом фоторецепторов либо при непосредственном их синергическом взаимодействии (например, возможное проявление активности *PHYA* через *PHYE*, *CRY1* и *CRY2*), либо при автономном регулировании одним видом фоторецепторов (например, *PHYA* и *PHYB* фитохромы необходимы для проявления полной активности криптохрома *CRY1*, тем не менее *CRY1* также может проявлять активность независимо от *PHYA* и *PHYB*). На основании данных исследований сделан вывод о том, что *SHL* гены являются светозависимыми негативными регуляторами морфогенеза и их экспрессия регулируется двумя классами фоторецепторов — как фитохромами, так и криптохромами.

Модели сигнальных механизмов фитохромов. Свет является мощным стимулирующим фактором, управляющим посредством фитохромов развитием растений. К многочисленным эффектам, которые свет оказывает на активность фитохромов, относятся, прежде всего, изменения в их спектральных свойствах и конформационные изменения в белковых субъединицах фитохромов. Возникающие под действием света в ядре посттранскрипционная модификация фитохромов — автофосфорилирование, а также конформационные изменения белков фитохромов влияют на субклеточную локализацию фоторецепторов, их стабильность (в случае *phyA*), протеинкиназную активность фитохромов и на взаимодействие с другими сигнальными факторами. Трансфосфорилирующая активность фитохромов, осуществляющих светозависимую модификацию других сигнальных компонентов, также регулируется светом.

В настоящее время существуют три гипотетические модели сигнальных механизмов фитохромов [3]. Согласно первой предлагаемой модели, фитох-

ромы в своей Pr форме (т. е. фитохромы, синтезируемые в клетках растений в поглощающей красный свет Pr форме, $\lambda_{\max} = 660$ нм) могут взаимодействовать с цитоплазматическими белками, такими как PKS1; при экспозиции на свету происходит фосфорилирование PKS1 фитохромами с последующим прекращением их взаимодействия, после чего фитохромы транслоцируются в ядро, где взаимодействуют с ядерными белками, в частности, с PIF3, регулируя таким образом транскрипционную активность поздних сигнальных компонентов или генов, контролирующих рост и развитие. В определенных типах клеток фитохромы взаимодействуют с дополнительными регуляторными факторами, которые могут быть как цитоплазматическими, так и ядерными, например, с NDPK2.

В рамках второй модели фитохромы синтезируются в клетках растений в неактивной, поглощающей красный свет Pr форме, фототрансформирующейся при облучении красным светом в активную поглощающую дальний красный свет Pfr форму ($\lambda_{\max} = 730$ нм), которая под действием дальнего красного света быстро превращается в неактивную Pr форму. Для Pfr формы фитохромов характерны два типа физиологической ответной реакции растений: LFRs (low fluence responses), VLFRs (very-low-fluence responses) типы, в то время как для образующейся в процессе фотоциклирования дальним красным светом Pr формы фитохромов характерен HIRs (high-irradiance responses) тип физиологического ответа [20]. Однако эта фотоциклическая Pr форма не является адекватной изначально синтезированной (нефотоциклической) Pr форме, следовательно, эти две формы подверглись различным посттранскрипционным модификациям. Так как фитохромы автофосфорилируются под действием света, то дополнительные фосфаты создают различие между *de novo* синтезирующейся и фотоциклической Pr формами [12, 60]. Последняя является активной и короткоживущей формой, поскольку растущее растение нуждается в постоянном обновлении новых фотоциклических форм [20]. Модель, согласно которой обе Pfr и фотоциклическая Pr формы транспортируются в ядро, объясняет, как фитохромы аккумулируются в ядре после обработки красным или дальним красным светом.

В соответствии с третьей предложенной моделью сигнальных механизмов фитохромов происходит светоиндуцируемое конформационно-специфическое взаимодействие фоторецепторов с транскрипционными факторами (фосфорилирование

ядерных белков) [14]. Более того, активность ряда транскрипционных факторов регулируется фосфорилированием [89]. Однако взаимодействия между различными видами фоторецепторов указывают на существование более комплексной, глобальной регуляции проведения сигналов фитохромов. Возможно, что каждый пул фитохромов контролирует только один или несколько из многих видов физиологических ответов растений.

Например, показано, что мутации генов, являющихся регуляторными компонентами фитохромов (*PKS1*, *PIF3*, *NDPK2* генов), проявляются в различных тканях проростков [3]. Вполне вероятно, что эти регуляторные компоненты взаимодействуют с фитохромами только в определенных типах клеток: например, обнаружено, что *PKS1*, *PIF3* регуляторы активны в клетках всего гипокотыля, а *NDPK2* — только в участке крючка гипокотыля. Кроме того, существуют многие другие физиологические реакции, контролируемые фитохромами (например, изменения в ионном потоке через клеточные мембраны), которые осуществляются гораздо быстрее, чем процессы ядерной транслокации или активации транскрипции. Таким образом, возможно, что фитохромы могут проявлять свою активность как в ядре, так и в разных клеточных компартаментах.

Сигнальные взаимодействия между фитохромами и фитогормонами. В настоящее время хорошо известно, что многие фитогормоны участвуют в фотоморфогенетических реакциях растений. Это и неудивительно, так как два класса сигналов (света и фитогормонов) действуют на одни и те же клетки и органы. Растяжение клеток является одним из феноменов, на который значительно влияют свет и фитогормоны.

Разные спектры света и разная интенсивность излучения могут оказывать противоположное действие на один и тот же физиологический процесс, например, либо индуцировать, либо ингибировать элонгацию стебля [16, 90]. Подобно свету, фитогормоны также влияют на элонгацию стебля. В большинстве случаев этилен, абсцизовая кислота и цитокинины ингибируют элонгацию клеток. Противоположное (т. е. стимулирующее) действие оказывают ауксин, гиббереллины и брассиностероиды (BR) [3, 91, 92]. Некоторые фотоморфогенетические мутанты имеют свойства мутантов, у которых или нарушен биосинтез фитогормонов, или снижена к ним чувствительность (вследствие мутаций генов — ингибиторов биосинтеза фитогормонов).

В частности, гиббереллинсигнальные (GA) му-

танты *spindly* (дефектные по гену *SPY*, кодирующему негативный регуляторный фактор биосинтеза GA) с конститутивной экспрессией GA-регулируемых генов напоминают *phyB* мутантов с удлиненными стеблями, бледными листьями и ранним цветением (подобный фенотип наблюдается у диких типов растений, экзогенно обработанных GA3) [93]. Результаты генетического анализа мутаций GA и фитохромов свидетельствуют о взаимодействии между этими двумя сигнальными системами при определенных физиологических условиях, хотя некоторые онтогенетические стадии развития, такие как цветение, вероятно, контролируются независимо обеими системами. Фитохромы могут регулировать транскрипцию генов биосинтеза GA [3]. Одним из примеров взаимодействия между этими двумя сигнальными системами является совместная регуляция фитохромом *phyB* и гиббереллинами синтеза в черенках картофеля соединения, контролирующего образование клубней [94].

Брассиностероиды играют важную роль в фотоморфогенезе. Многие *br* мутанты идентифицированы при генетических исследованиях растений, способных подвергаться деэтиоляции в отсутствие света [1, 3, 95]. Растущие в темноте *br* мутантные проростки имеют фенотип, подобный диким, растущим на свету растениям с короткими гипокотылями и с развитыми семядолями, в то же время их фенотип противоположен мутантам, дефектным по *phyB*. Взрослые *br* мутанты являются карликовыми, медленно растущими растениями с темно-зелеными эпинастическими листьями, короткими стеблями и черешками и замедленным процессом старения. В ходе проведенных исследований был раскрыт молекулярный механизм взаимодействия BR с фоторецепторами. Выяснено, что свет ингибирует активность генов биосинтеза BR или их рецепторов, в то время как для скотоморфогенеза в темноте необходимы высокие уровни BR [1]. При изучении экстрагенных доминантных супрессоров *phyB* мутаций (*phyB-4*) идентифицирован ген *BAS1*, кодирующий цитохром P450, участвующий в различных процессах окисления, дезалкилирования, дезаминирования, дегалогенирования, а также 22 α -гидроксилирования BR, т. е. катализирующий инактивацию/деградацию BR [96]. Гиперэкспрессия *BAS1* проявлялась в карликовости растений, которые не имели синдрома избегания тени, характерного для *phyB* мутантов. Методом генетического анализа этих доминантных мутаций определено, что *BAS1* ген выполняет роль супрессора *phyB*, и экспрессия *BAS1* гена регулируется *phyA* и *cry1*.

Хотя в настоящее время не известно, как фоторецепторы *phyA* и *cry1* регулируют активность *BAS1*, приведенные данные демонстрируют взаимосвязь между многочисленными фоторецепторами и катаболизмом BR.

Как физиологические, так и генетические исследования свидетельствуют о роли ауксина в фотоморфогенезе [3]. Эксперименты показали, что транспорт ауксина находится в прямой зависимости от освещенности. Например, мутации *HY5* гена, кодирующего bZIP фактор транскрипции, участвующий в передаче сигналов ауксина, проявляясь у проростков в удлинении гипокотилей при различных режимах освещения [87]. Взаимосвязь между сигналами ауксина и фотоморфогенезом обнаружена при экспрессии клонированного *SHY2* гена. Как показали результаты экспериментов, мутация *shy2* является супрессорной по отношению к мутациям с уменьшенным уровнем содержания всех фитохромов, фенотипически проявляющихся в удлинении гипокотилей (как и при нулевом *phyB* аллеле) [97]. Эта доминантная мутация затрагивает также и ауксин-индуцируемый *IAA3* ген [98]. Большое количество данных, подтверждающих взаимосвязь между сигнальными путями фитохрома и ауксина, получено при изучении регулируемой дальним красным светом экспрессии *ATHB-2* гена — негативного регулятора транскрипции. Гиперэкспрессия *ATHB-2* гена приводит к возникновению у растений синдрома избегания тени, что связано с нарушением транспорта ауксина [77].

Еще одним примером межмолекулярного взаимодействия фитохромов и ауксинов являются данные о том, что в световой инактивации *COP1* гена, ключевого репрессора фотоморфогенеза в темноте, участвует ауксин-индуцируемый ген *FIN219*, активность которого регулируется фитохромами *phyA*, *phyB* и криптохромами [3, 84].

Фоторегуляция циркадных ритмов. Многие физиологические и биохимические процессы у растений осуществляются ритмически с 24-ч периодичностью. Эти ритмы регулирует эндогенная хронометрическая система, называемая циркадной и состоящая из трех основных доменов (имеющих условные названия): главным является центральный циркадный осциллятор, или физиологические часы, а два других представляют собой сеть сигнальных компонентов, одни из которых (input pathways) воспринимают поступающую из внешней среды информацию и передают ее в виде сигналов на центральный осциллятор (контролирующий все физиологические процессы), а другие (output path-

ways) участвуют в проведении выходящих из центрального осциллятора сигналов в виде сложной последовательности реакций [1—6, 23, 99].

Циркадные (суточные) ритмы соответствуют периодическим изменениям окружающей среды, наиболее важными экзогенными стимулирующими факторами являются свет и температура. Фоторецепторы фитохромы и криптохромов влияют на активность физиологических часов, воспринимая и передавая световые сигналы на эндогенный центральный осциллятор [5, 23, 100]. Физиологические часы регулируют многие процессы на протяжении всего развития растения, включая движение листьев [101], раскрытие и закрытие цветков [6], элонгацию гипокотилей [102, 103] и открытие устьиц [104], образование конидий у грибов, интенсивность гуттации, термопериодизм и другие физиологические процессы. На уровне клетки физиологическими часами регулируются частота митозов (максимальная ночью), объем клеточного ядра, форма хлоропластов, интенсивность фотосинтеза, интенсивность дыхания, активность ферментов (амилазы, каталазы и др.).

Несмотря на то, что циркадные ритмы открыты более 250 лет назад, молекулярные сигнальные компоненты (как передающие на осциллятор, так и воспринимающие с осциллятора информацию) физиологических часов определены недавно [99]. С помощью генетического анализа идентифицирована группа генов, участвующих в фотопериодическом контроле цветения и регуляции циркадных ритмов у растения *Arabidopsis*. При поиске мутантов с циркадной аритмией и нарушенной фотопериодичностью цветения выявлена многочисленная семья генов у *Arabidopsis* (*ZTL* (zeitlupe), *FKF1*, *LKP2*, *TOC1*, *CCA1*, *LHY*, *ELF3* и *GL* гены) [99, 105—110].

При анализе *ztl* и *fkf1* мутаций, фенотипически проявляющихся у растений в позднем цветении при длинном дне (и, наоборот, при коротком дне) и коротком гипокотиле (при освещении красным светом у *ztl* мутантов и при освещении красным и синим светом у *fkf1* мутантов), сделан вывод о том, что *ZTL* и *FKF1* гены играют важную регуляторную роль в циркадной системе *Arabidopsis* и функционируют как компоненты, передающие световые сигналы на центральный осциллятор [105, 106]. Обнаружено, что гиперэкспрессирующие *LKP2* проростки имели аритмические фенотипы в условиях постоянной темноты или постоянной освещенности, длинные гипокотили при освещении красным светом (фенотип, подобный *phyB* мутан-

там), так и синим и белым светом, у них также наблюдалось снижение фотопериодического контроля времени цветения. Молекулярно-биологический анализ показал, что транскрипция мРНК *LKP2* не регулируется физиологическими часами, высокие уровни мРНК *LKP2* обнаруживаются во всех видах исследуемых тканей (корнях, стеблях, розеточных листьях, стеблевых листьях, цветках, стручках и сухих семенах). Полученные результаты свидетельствуют, что *LKP2* функционирует либо внутри центрального осциллятора, либо в непосредственной близости к нему у *Arabidopsis*. Последующее секвенирование выявило, что *ZTL*, *FKF1* и *LKP2* гены имеют уникальную комбинацию последовательностей: PAS-домена, F-box области и kelch-повторов [99, 111, 112]. Определена функциональная роль F-box белков. Как выяснено, они взаимодействуют с SKP белками — компонентами SCF E3 (SKP, cullin/Cdc53, F-box) класса убиквитинлигаз с последующей убиквитин-направляемой деградацией F-box белков [113, 114].

Компоненты SCF E3 класса убиквитинлигаз принимают функциональное участие в проведении сигналов ауксинов, жасмоновой кислоты, в контроле цветения и в регуляции физиологических часов [99, 115]. Так как *ZTL* и *LKP2* гены регулируют функционирование физиологических часов, вполне возможно, что их F-box и kelch-домены ответственны за изменения, происходящие в циркадном осцилляторе [99, 111, 114]. Корреляция между длиной hypocotyle, временем цветения и циркадными ритмами, обнаруженная у *fkf1* мутантных растений, указывает на то, что F-box и kelch-домены регулируют данные физиологические процессы.

В соответствии с данными биохимического анализа, белки, имеющие PAS-домены, подразделяются на два широких класса [112]: первый функционально способен взаимодействовать с небольшими молекулами (кофакторами), а второй опосредует гетеротипное межбелковое взаимодействие. Например, как обнаружено, рецептор синего света фототропин, контролирующий фототропизм, содержит PAS-домены первого класса, взаимодействующие с флавиномононуклеотидом (FMN), ключевым кофактором фоторецепторов синего света [116]. Таким образом, функциональная общность в присоединении FMN кофактора PAS-доменами фототропина и *ZTL* генов свидетельствует о том, что белки, кодируемые *ZTL* генами, могут функционировать как рецепторы синего света. Ко второму классу белков, определяющих гетеротипное межбелковое взаимодействие, относятся фоторецепто-

ры красного света — фитохромы, содержащие PAS-домены, участвующие в опосредованной димеризации с другими фоторецепторами; эта димеризация может регулировать активность *ZTL* генов светозависимым образом [99].

Исследования циркадной регуляции экспрессии генов фоторецепторов (проводников световых сигналов к осциллятору) (рис. 3) проведены на трансгенных проростках *Arabidopsis*, несущих разные химерные генные конструкции типа промотор::люцифераза, которые выращивали в условиях циклически чередующихся (12-ч светового/12-ч темнового) периодов в течение одной недели, затем проростки обрабатывали 5 мМ раствором люциферина [6, 23]. Как свидетельствуют полученные результаты, амплитуда и ритмы биолюминесцентной экспрессии химерных генов были переменными в зависимости от типа и возраста ткани: максимальная *PHYA::LUC* и *CRY2::LUC* активность наблюдалась в нераскрытых семядолях и апикальных участках hypocotyle и несколько меньший уровень экспрессии этих же генов обнаружен в верхушечных меристемах побегов, листьев и корней этиолированных проростков. Снижение амплитуды и уровней экспрессии *PHYA::LUC* и *CRY2::LUC* генов происходило спустя 4—6 ч после начала освещения в семядолях, hypocotyle и корнях, что подтверждает негативное влияние света на транскрипцию светочувствительных фоторецепторов *PHYA* и *CRY2*.

Максимальная экспрессия генетических конструкций *PHYB::LUC*, *PHYC::LUC*, *PHYD::LUC* и *PHYE::LUC* обнаруживалась в основном в семядолях и кончиках корней, а незначительная — в зачатках листьев, в меристемах побегов, в корнях и в камбиальных тканях спустя 2 ч после начала освещения, однако в темноте идентифицированы более низкие уровни *PHYC::LUC* транскриптов. Экспрессия *CRY1::LUC* генов также возрастала во время освещения и преобладала в воздушных тканях семядолей и зачатках листьев и отсутствовала в корнях. Был сделан вывод о том, что в отличие от светочувствительных фоторецепторов *PHYA* и *CRY2*, относительно светостабильные *PHYB*, *PHYC*, *PHYD*, *PHYE* и *CRY1::LUC* белки активно транскрибируются в начале первой половины световой фазы.

Приведенные выше данные о светозависимой органоспецифической экспрессии *PHYA—PHYE*, *CRY1* и *CRY2* генов согласуются с полученными ранее результатами исследований β -глюкуронидазной активности репортерных генных конструкций промотор::GUS, более того, они совпадают с

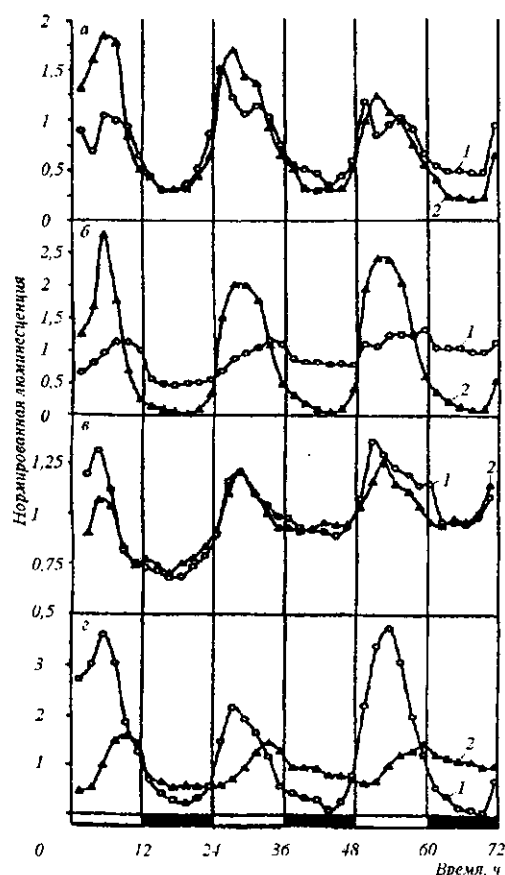


Рис. 3. Суточная регуляция биолюминесцентной экспрессии химерных генов фитохромов и криптохромов в проростках *Arabidopsis*, выращиваемых в условиях циклически чередующихся (12-ч светового/12-ч темнового) периодов в течение одной недели [6]: а — *PHYA::LUC* (1), *PHYB::LUC* (2); б — *PHYC::LUC* (1), *CAB2::LUC* (2); в — *PHYD::LUC* (1), *PHYE::LUC* (2); г — *CRY1::LUC* (1), *CRY2::LUC* (2); белые прямоугольники по оси абсцисс — световой интервал; черные — темновой

результатами мРНК анализа [117]. В дополнение к ритмической регуляции экспрессии генов фитохромов свет также оказывает влияние на посттрансляционные механизмы, например, на киназную активность [62] и/или ядерную транслокацию фоторецепторов [118].

К компонентам, передающим световые сигналы на центральный осциллятор, относятся также *TOC1*, *CCA1*, *LHY*, *ELF3* и *GL* гены [99, 107—110]. Физиологический анализ показал, что гиперэкспрессирующие *TOC1*, *CCA1* и *LHY* растения имеют фенотипические модификации, проявляющиеся в изменении длины hypocotyle и нарушении во времени цветения. Впоследствии было выяснено, что *TOC1*, *CCA1* и *LHY* гены являются MYB-подобными транскрипционными факторами, ассо-

циированными с циркадными часами, гиперэкспрессия которых вызывает фотопериодическую аритмию, удлинение hypocotyle и позднее цветение у *Arabidopsis*. Подобную функцию выполняют *ELF3* и *GL* гены, регулирующие передачу световых сигналов на центральный осциллятор. Например, у *elf3* и *gl* мутантов *Arabidopsis* при постоянном освещении проявляется аритмический фенотип с ранним цветением.

Регуляторные компоненты, воспринимающие с осциллятора информацию, идентифицированы при проведении исследований циркадной регуляции экспрессии многих светозависимых генов растений. К многочисленным генам, экспрессия которых регулируется физиологическими часами, относятся гены, вовлеченные в фотосинтез (включая *CAB* или *LHCB* гены, кодирующие хлорофилл a/b-связывающие белки [6], а также *psbA* и *psbD* гены хлоропластов, кодирующие хлорофилл-связывающие белки D1 и D2 фотосистемы II) [2, 3, 6, 104, 119], метаболизм и УФ-протекцию [120, 121]. Например, получены данные, свидетельствующие о том, что ритмическая экспрессия некоторых генов растений становится аритмической в условиях постоянной темноты, при этом происходит уменьшение колебаний амплитуды и уровней экспрессии генов [6]. Такие ритмические изменения называются затухающими. В частности, в темноте происходит быстрое снижение амплитуды и уровней экспрессии *CAB2* и *CCR2* генов, поскольку экспрессия этих генов строго регулируется физиологическими часами через фитохромы *phyA* и *phyB*, воспринимающие световые сигналы. Воздействие дальним красным светом перед последующей темновой фазой проявляется в ускорении затухания *CAB2* экспрессии, тогда как гиперэкспрессия гена *PHYA* предотвращает или отодвигает затухание [122]. Как свидетельствуют полученные результаты, быстрое затухание экспрессии светорегулируемых генов коррелирует с низкими уровнями освещения дальним красным светом. По сравнению с *CAB2* экспрессией более выраженное снижение экспрессии гена *CAT3* наблюдается в темноте. Обнаружено, что двойные мутации фоторецепторов *phyA* и *cry1* у *Arabidopsis* предотвращают затухание ритмов *CAT3* экспрессии. Это указывает на тот факт, что белки фоторецепторов необходимы для затухания *CAT3* экспрессии в темноте, однако механизм этого процесса еще не раскрыт [123].

Технология улучшения урожая. Комплексное изучение механизмов молекулярных и клеточных взаимодействий, контролирующих основополагаю-

щие процессы развития, такие как деление, растяжение и дифференциация клеток, является залогом для создания в перспективе успешных технологий модификации урожаев (т. е. технологий выращивания различных садовых и сельскохозяйственных культур) [124]. Например, методом гиперэкспрессии гена *PHYA* овса в трансгенном табаке можно значительно улучшить индекс урожайности [125], несколько смягчая физиологическую ответную реакцию избегания тени, возникающую у растений при тесной посадке (у близкорастущих или плотно-растущих растений). Аналогично, гиперэкспрессия гена *PHYB Arabidopsis* в трансгенном картофеле усиливает фотосинтетическую активность и продолжительность жизни, что приводит к увеличению количества клубней [126]. Гиперэкспрессия гена *PHYA* овса в гибридной осине усиливает карликовость и уменьшает реакцию избегания тени [127], что позволяет при одновременном сокращении посевных площадей увеличивать продуктивность (количество) лесных пород деревьев.

Однако, несмотря на многообещающие перспективы, генетические модификации экспрессии фоторецепторов не являются наилучшим способом регулирования урожайности. Например, при том, что количество клубней в трансгенном гиперэкспрессирующем *PHYB* картофеле увеличивается, их размер остается небольшим [126]. У гиперэкспрессирующей *PHYA* гибридной осины снижается способность акклиматизироваться к холодным температурам ввиду отсутствия физиологической реакции, возникающей у диких типов растений к концу дня при освещении дальним красным светом, что впоследствии приводит к повышению у трансгенных растений чувствительности к морозам [127]. Тем не менее, с помощью клонирования и модификации генов, экспрессия которых регулируется фоторецепторами, а также всех компонентов сигнальных путей фитохромов можно, по-видимому, достичь более отрегулированного контроля развития растений.

Один из способов клонирования и контроля активности генов фотоморфогенеза состоит в проведении тщательных многочисленных исследований фитохром-опосредованной экспрессии генов. В проведенной недавно работе с использованием флуоресцентных методов идентифицировано свыше 20 генов, дифференцированно экспрессировавшихся у диких типов и *phyA* нулевых мутантов [128]. Эти методы в совокупности с более глубоким поиском взаимодействующих с фитохромами разных регуляторных компонентов, а также дальней-

шая идентификация и клонирование мутаций, вовлеченных в морфогенез, несомненно, дополняют и расширяют классификацию генов, контролирующих фотоморфогенез.

Использование упомянутых научных методов при изучении более примитивных сигнальных путей фитохромов, обнаруженных у низших растений и бактерий, даст возможность идентифицировать новые функциональные компоненты у высших растений, а также получить фундаментальные знания о комплексном взаимодействии сигнальных механизмов фитохромов с другими регуляторными системами у растений, с помощью которых можно будет регулировать сроки созревания культур и улучшать их урожайность.

V. A. Tsygankova, L. A. Galkina, L. I. Musatenko, K. M. Sytnik

Genetical and epigenetical control of plant growth and development. Genes of photomorphogenesis and regulation of their expression by light

Summary

The review is devoted to the analysis of literary data discovering mechanisms of light signals perception by plant cells and their realization on a genetic level. The physiological and biochemical characteristics of photoreceptors, i. e. effectors, which perceive light signals, and their classification according to the functional role are presented: 1) the red/far-red light-absorbing phytochromes and red light-perceiving chlorophyll; 2) the blue/UV-A/UV-B selectively light-absorbing photoreceptors: cryptochromes, phototropins and carotenoids as well as data about genes encoding photoreceptors phytochromes (*PHYA*—*PHYE* genes), cryptochromes (*CRY1* and *CRY2* genes) and phototropins (*NPH* and *NPL1* genes) in *Arabidopsis*. The greatest attention in the review is assigned to the consideration on concrete genes, the expression of which is regulated by light signals through phytochrome A (*FHY1*, *FHY3*, *SPA1*, *FIN2*, *FIN219*, *FAR1* genes); phytochrome B (*RED1*, *PEF2*, *PEF3*, *PKS1*, *ATHB-2* genes) as well as through both phytochrome A and phytochrome B (*PEF1*, *PSI2*, *PIF3*, *NDPK2*, *HYS*, *Elip* genes). The data about discovering new genes: *COP1*, *DET1*, *COP9*, *COP10* and *SHL* genes — the negative regulators of morphogenesis at dark, that act downstream of both phytochromes and cryptochromes are presented. The information concerns also the identification of the numerous genes referred to molecular physiological clock (endogenous oscillator) signaling components, which are involved in transducing the environmental signals to oscillator: *ZTL*, *FKF1*, *LKP2*, *TOC1*, *CCA1*, *LHY*, *ELF3*, *GL*, *PHYA*—*PHYE*, *CRY1* and *CRY2* genes as well as signaling components, which perceive information from oscillator: *CAB2*, *CCR2*, *CAT3*, *psbA*, *psbD*. The evidences about signal interaction of phytochromes and phytohormones are presented.

V. A. Цицанкова, Л. А. Галкина, Л. И. Мусатенко, К. М. Ситник

Генетичний і епігенетичний контроль росту і розвитку рослин. Гени фотоморфогенезу та регуляція їхньої експресії світлом

Резюме

Огляд присвячено аналізу літературних даних, що розкривають механізми сприйняття світлових сигналів клітинами рослин і реалізації їх на генетичному рівні. Наведено фізіолого-

біохімічні характеристики фоторецепторів — ефекторів, які сприймають сигнал світла, та їхня класифікація у відповідності з функціональною роллю: 1) фітохромів, які absorbують червоне/далеке червоне світло, і хлорофілу, який сприймає червоне світло; 2) криптохромів, фототронінів та каротиноїдів, які селективно absorbують синє/УФ-А/УФ-В світло, а також дані про гени, які кодують фоторецептори фітохроми (PHYA—PHYE гени), криптохроми (CRY1 і CRY2 гени), а також фототроніни (NPH і NPL1 гени) у *Arabidopsis*. Найбільшу увагу приділено розгляду конкретних генів, експресія яких регулюється сигналами світла за посередництвом фітохрому А (PHY1, PHY3, SPA1, FIN2, FIN219, FAR1 гени), фітохрому В (RED1, PEF2, PEF3, PKS1, АТНВ-2 гени), а також обох видів фітохромів: як А, так і В (PEF1, PSI2, PIF3, NDPK2, HYS, Elip гени). Представлено дані про відкриття нових генів: COP1, DET1, COP9, COP10 і SHL — негативних регуляторів морфогенезу у темряві, експресія яких регулюється двома класами фоторецепторів — як фітохромами, так і криптохромами, а також відомості про ідентифікацію численної групи генів — сигнальних елементів фізіологічного годинника (ендогенного осцилятора): ZTL, FKF1, LKP2, TOC1, CCA1, LHY, ELF3, GL, PHYA—PHYE, CRY1 і CRY2 гени, які передають на осцилятор сигнали зовнішнього середовища, а також CAB2, CCR2, CAT3, psbA, psbD та інших генів, які сприймають інформацію, що надходить з осцилятора. Представлено також докази існування сигнальних взаємодій між фітохромами та фітогормонами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ma L., Li J., Qu L., Hager J., Chen Z., Zhao H., Deng X. W. Light control of *Arabidopsis* development entails coordinated regulation of genome expression and cellular pathways // *Plant Cell*.—2001.—13, N 12.—P. 2589—2607.
2. Thum K. E., Kim M., Christopher D. A., Mullet J. E. Cryptochrome 1, cryptochrome 2, and phytochrome A co-activate the chloroplast *psbD* blue light-responsive promoter // *Plant Cell*.—2001.—12, N 12.—P. 2747—2760.
3. Neff M. M., Fankhauser C., Chory J. Light: an indicator of time and place // *Genes and Develop.*—2000.—14.—P. 257—271.
4. Harari-Steinberg O., Chamovitz D. A. Dissection of the light signal transduction pathways regulating the two early light-induced protein genes in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.*—2001.—127, N 3.—P. 986—997.
5. Hsich H. L., Okamoto H., Wang M., Ang L. H., Matsui M., Goodman H., Deng X. W. *FIN219*, an auxin-regulated gene, defines a link between phytochrome A and the downstream regulator COP1 in light control of *Arabidopsis* development // *Genes and Develop.*—2000.—14.—P. 1958—1970.
6. Hall A., Kozma-Bognar L., Toth R., Nagy F., Millar A. J. Conditional circadian regulation of PHYTOCHROME A gene expression // *Plant Physiol.*—2001.—127, N 4.—P. 1808—1818.
7. Garner W. W., Allard H. A. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants // *J. Agric. Res.*—1920.—18.—P. 553—606.
8. Borthwick H. A., Hendricks S. B., Parker M. W., Toole E. H., Toole V. K. A reversible photoreaction controlling seed germination // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1952.—38.—P. 662—666.
9. Butler W. L., Norris K. H., Siegelman H. W., Hendricks S. B. Detection, assay, and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plants // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1959.—45.—P. 1703—1708.
10. Kendrick R. E., Kronenberg G. H. M. *Photomorphogenesis in plants*.—Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1994.
11. Yeh K. C., Lagarias J. C. Eukaryotic phytochromes: light-regulated serine/threonine protein kinases with histidine kinase ancestry // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95.—P. 13976—13981.
12. Yeh K. C., Wu S. H., Murphy J. T., Lagarias J. C. A cyanobacterial phytochrome two-component light sensory system // *Science*.—1997.—277.—P. 1505—1508.
13. Mancinelli A. L. The physiology of phytochrome actions // *Photomorphogenesis in plants* / Eds R. E. Kendrick, G. H. M. Kronenberg.—Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1994.—P. 211—270.
14. Roux S. J. Signal transduction in phytochrome responses // *Photomorphogenesis in plants* / Eds R. E. Kendrick, G. H. M. Kronenberg.—Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1994.—P. 187—209.
15. Vince-Prue D. The duration of light and photoperiodic responses // *Photomorphogenesis in plants* / Eds R. E. Kendrick, G. H. M. Kronenberg.—Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1994.—P. 447—490.
16. Smith H., Whitelam G. C. The shade avoidance syndrome: multiple responses mediated by multiple phytochromes // *Plant Cell Environ.*—1997.—20.—P. 840—844.
17. Shinomura T. A., Nagatani H., Hanzawa M., Kubota M., Watanabe M., Furuya M. Action spectra for phytochrome A- and B-specific photoinduction of seed germination in *Arabidopsis thaliana* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1996.—93.—P. 8129—8133.
18. Cerdan P. D., Staneloni R. J., Casal J. J., Sanchez R. A. A 146 bp fragment of the tobacco *Lhcb1*2* promoter confers very-low-fluence, low-fluence and high-irradiance responses of phytochrome to a minimal *CaMV* 35S promoter // *Plant Mol. Biol.*—1997.—33.—P. 245—255.
19. Cerdan P. D., Yanovsky M. J., Reymundo F. C., Nagatani A., Staneloni R. J., Whitelam G. C., Casal J. J. Regulation of phytochrome B signaling by phytochrome A and PHY1 in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J.*—1999.—18.—P. 499—507.
20. Shinomura T. K., Uchida T. K., Furuya M. Elementary responses of photoperception by phytochrome A for high irradiance response of hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol.*—2000.—122.—P. 147—156.
21. McCourt P. Genetic analysis of hormone signalling // *Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.*—1999.—50.—P. 219—243.
22. Becraft P. W., Suk-Hoon Kang, Sang-Gon Suh. The maize CRINKLY4 receptor kinase controls a cell-autonomous differentiation response // *Plant Physiol.*—2001.—127, N 2.—P. 486—496.
23. Toth R., Kevei E., Hall A., Millar A. J., Nagy F., Kozma-Bognar L. Circadian clock-regulated expression of phytochrome and cryptochrome genes in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.*—2001.—127, N 4.—P. 1607—1616.
24. Abe H. K., Takio K., Titani K., Furuya M. Amino-terminal amino acid sequences of pea phytochrome II fragments obtained by limited proteolysis // *Plant Cell Physiol.*—1989.—30.—P. 1089—1097.
25. Clack T., Nathews S., Sharrock R. A. The phytochrome apoprotein family in *Arabidopsis* is encoded by five genes: the sequences and expression of PHYD and PHYE // *Plant Mol. Biol.*—1994.—25.—P. 413—427.
26. Clough R. C., Jordan-Beebe E. T., Lohman K. N., Marita J. M., Walker J. M., Gatz C., Vierstra R. D. Sequences within both the N- and C-terminal domains of phytochrome A are

- required for Pfr ubiquitination and degradation // *Plant J.*—1999.—17.—P. 155—167.
27. Somers D. E., Quail P. H. Phytochrome-mediated light regulation of *PHYA*- and *PHYB-GUS* transgenes in *Arabidopsis thaliana* seedlings // *Plant Physiol.*—1995.—107.—P. 523—534.
 28. Shinomura T., Nagatani A., Chory J., Furuya M. The induction of seed germination in *Arabidopsis thaliana* is regulated principally by phytochrome-b and secondarily by phytochrome-a // *Plant Physiol.*—1994.—105.—P. 773—781.
 29. Nagatani A., Reed J. W., Chory J. Isolation and initial characterization of *Arabidopsis* mutants that are deficient in phytochrome A // *Plant Physiol.*—1993.—102.—P. 269—277.
 30. Jonson E., Bradley M., Harberd N. P., Whitelam G. C. Photoresponses of light-grown *phyA* mutants of *Arabidopsis*: phytochrome A is required for the perception of daylength extensions // *Plant Physiol.*—1994.—105.—P. 141—149.
 31. Somers D. E., Devlin P. F., Kay S. A. Phytochromes and cryptochromes in the entrainment of the *Arabidopsis* circadian clock // *Science.*—1998.—282.—P. 1488—1490.
 32. Reed J. W., Nagatani A., Elich T. D., Fagan M., Chory J. Phytochrome A and phytochrome B have overlapping but distinct functions in *Arabidopsis* development // *Plant Physiol.*—1994.—104.—P. 1139—1149.
 33. Hirschfeld M., Tepperman J. M., Clack T., Quail P. H., Sharrock R. A. Coordination of phytochrome levels in *phyB* mutants in *Arabidopsis* as revealed by apoprotein-specific monoclonal antibodies // *Genetics.*—1998.—149.—P. 523—535.
 34. Devlin P. F., Patel S. R., Whitelam G. C. Phytochrome E influences internode elongation and flowering time in *Arabidopsis* // *Plant Cell.*—1998.—10.—P. 1479—1488.
 35. Devlin P. F., Robson S. R., Patel S. R., Goosey R. A., Sharrock R. A., Whitelam G. C. Phytochrome D acts in the shade-avoidance syndrome in *Arabidopsis* by controlling elongation growth and flowering time // *Plant Physiol.*—1999.—119.—P. 909—915.
 36. Quin M., Kuhn R., Moran S., Quail P. H. Overexpressed phytochrome C has similar photosensory specificity to phytochrome B but a distinctive capacity to enhance primary leaf expansion // *Plant J.*—1997.—12.—P. 1163—1172.
 37. Gendreau E., Hofte H., Grandjean O., Brown S., Traas J. Phytochrome controls the number of endoreduplication cycles in the *Arabidopsis thaliana* hypocotyl // *Plant J.*—1998.—13.—P. 221—230.
 38. Devlin P. F., Halliday N. P., Harberd N. P., Whitelam G. C. The rosette habit of *Arabidopsis thaliana* is dependent upon phytochrome action: novel phytochromes control internode elongation and flowering time // *Plant J.*—1996.—10.—P. 1127—1134.
 39. Yang H. Q., Tang R. H., Casmere A. R. The signaling mechanism of *Arabidopsis* CRY1 involves direct interaction with COP1 // *Plant Cell.*—2001.—13.—P. 2573—2587.
 40. Mockler T. C., Guo H., Yang H., Duong H., Lin C. Antagonistic actions of *Arabidopsis* cryptochromes and phytochrome B in the regulation of floral induction // *Development.*—1999.—126.—P. 2073—2082.
 41. Furuya M., Song P. S. Assembly and properties of holophytochrome // *Photomorphogenesis in plants* / Eds R. E. Kendrick, G. H. M. Kronenberg.—Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1994.—P. 105—140.
 42. Wang X., Lino M. Interaction of cryptochrome 1, phytochrome, and ion fluxes in blue-light-induced shrinking of *Arabidopsis* hypocotyl protoplasts // *Plant Physiol.*—1998.—117.—P. 1265—1279.
 43. Christie J. M., Reymond P., Powell G. K., Bernasconi P., Raibekas A. A., Liscum E., Briggs W. R. *Arabidopsis* NPH1: a flavoprotein with the properties of photoreceptor for phototropism // *Science.*—1998.—282.—P. 1698—1701.
 44. Janoudi A. K., Gordon W. R., Wagner D., Quail P., Poff K. L. Multiple phytochromes are involved in red-light-induced enhancement of first-positive phototropism in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol.*—1997.—113.—P. 975—979.
 45. Woitzik F., Mohr H. Control of hypocotyl phototropism by phytochrome in dicotyledonous seedlings (*Sesamum indicum* L.) // *Plant Cell Environ.*—1988.—11.—P. 653—661.
 46. Nozue K. T., Kanegae T., Imaizumi T., Fukuda S., Okamoto H., Yeh K. C., Lagarias J. C., Wada M. A phytochrome from the fern *Adiantum* with features of the putative photoreceptor NPH1 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95.—P. 15826—15830.
 47. Jarillo J. A., Gabrys H., Capel J., Alonso J. M., Ecker J. R., Cashmore A. R. Phototropin-related NPL1 controls chloroplast relocation induced by blue light // *Nature.*—2001.—410.—P. 952—954.
 48. Pratt L. H. Distribution and localization of phytochrome within the plant // *Photomorphogenesis in plants* / Eds R. E. Kendrick, G. H. M. Kronenberg.—Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1994.—P. 163—186.
 49. Sakamoto K., Nagatani A. Nuclear localization activity of phytochrome B // *Plant J.*—1996.—10.—P. 859—868.
 50. Kircher S., Kozma-Bognar L., Kim L., Adam E., Harter K., Schafer E., Nagy F. Light quality-dependent nuclear import of the plant photoreceptors phytochrome A and B // *Plant Cell.*—1999.—11.—P. 1445—1456.
 51. Yamaguchi R., Nakamura M., Mochizuki N., Kay S. A., Nagatani A. Light-dependent translocation of a phytochrome B-GFP fusion protein to the nucleus in transgenic *Arabidopsis* // *J. Cell Biol.*—1999.—145.—P. 437—445.
 52. Lamond A. I., Earnshaw W. C. Structure and function in the nucleus // *Science.*—1998.—280.—P. 547—553.
 53. Murphy J. T., Lagarias J. C. The phytofluors: a new class of fluorescent protein probes // *Curr. Biol.*—1997.—7.—P. 870—876.
 54. Lagarias J. C., Rapoport H. Chromopeptides from phytochrome. The structure and linkage of the Pr form of the phytochrome chromophore // *J. Amer. Chem. Soc.*—1980.—102.—P. 4821—4828.
 55. Davis S. J., Kurepa J., Vierstra R. D. The *Arabidopsis thaliana* HY1 locus, required for phytochrome-chromophore biosynthesis, encodes a protein related to heme oxygenases // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1999.—96.—P. 6541—6546.
 56. Kay S. A. PAS, present and future: clues to the origins of circadian clocks // *Science.*—1997.—276.—P. 753—754.
 57. Huang Z. J., Edery I., Rosbash M. PAS is a dimerization domain common to *Drosophila* period and several transcription factors // *Nature.*—1993.—364.—P. 259—262.
 58. Taylor B. L., Zhulin I. B. PAS domains: internal sensors of oxygen, redox potential, and light // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*—1999.—63.—P. 479—506.
 59. Elich T. D., Chory J. Biochemical characterization of *Arabidopsis* wild-type and mutant phytochrome B holoproteins // *Plant Cell.*—1997.—9.—P. 2271—2280.
 60. Lapko V. N., Jiang X. Y., Smith D. L., Song P. S. Mass spectroscopic characterization of oat phytochrome A: isoforms

- and post-translational modifications // *Protein Sci.*—1999.—8.—P. 1—11.
61. Ahmad M. Seeing the world in red and blue: insight into plant vision and photoreceptors // *Curr. Opin. Plant Biol.*—1999.—2.—P. 230—235.
 62. Fankhauser C., Yeh K. C., Lagarias J. C., Zhang H., Elich T. D., Chory J. PKS1, a substrate phosphorylated by phytochrome that modulates light signaling in *Arabidopsis* // *Science.*—1999.—284.—P. 1539—1541.
 63. Kendrick R. E., Bossen M. E. Photocontrol of ion fluxes and membrane properties in plants // *Phytochrome and photo-regulation in plants* / Ed. M. Furuya.—Tokyo: Acad. press, 1987.—P. 215—224.
 64. Racusen R. H., Galston A. W. Developmental significance of light-mediated electrical responses in plant tissue // *Photomorphogenesis* / Ed. W. Shropshire, Jr., H. Mohr.—Berlin: Springer, 1983.—P. 687—703.
 65. Serlin B. S., Lew R. R., Krasnoshtein F., Krol J., Sumida K. D. Phytochrome activation of K⁺ channels and chloroplast rotation in *Mougeotia*: the escape times // *Plant Cell Physiol.*—1996.—37.—P. 175—179.
 66. Wayne R., Hepler P. K. The role of calcium ions in phytochrome-mediated germination of spores of *Onoclea sensibilis* L. // *Planta.*—1984.—160.—P. 12—20.
 67. Shacklock P. S., Read N. D., Trewavas A. J. Cytosolic free calcium mediates red light-induced photomorphogenesis // *Nature.*—1992.—358.—P. 753—755.
 68. Mustilli A. C., Bowler C. Tuning in to the signals controlling photoregulated gene expression in plants // *EMBO J.*—1997.—16.—P. 5801—5806.
 69. Choi G. H., Lee Yi J., Kwon Y. K., Soh M. S., Shin B., Luka Z., Hahn T. R., Song P. S. Phytochrome signalling is mediated through nucleoside diphosphate kinase 2 // *Nature.*—1999.—401.—P. 610—613.
 70. Ogura T., Tanaka N., Yabe N., Komatsu S., Hasunuma K. Characterization of protein complexes containing nucleoside diphosphate kinase with characteristics of light signal transduction through phytochrome in etiolated pea seedlings // *Photochem. and Photobiol.*—1999.—69.—P. 397—403.
 71. Ni M., Tepperman J. M., Quail P. H. PIF3, a phytochrome-interacting factor necessary for normal photoinduced signal transduction, is a novel basic helix-loop-helix protein // *Cell.*—1998.—95.—P. 657—667.
 72. Sugano S., Andronis C., Green R. M., Wang Z. Y., Tobin E. M. Protein kinase CK2 interacts with and phosphorylates the *Arabidopsis* circadian clock-associated 1 protein // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95.—P. 11020—11025.
 73. Soh M. S., Hong S. H., Hanzawa H., Furuya M., Nam H. G. Genetic identification of FIN2, a far red light-specific signaling component of *Arabidopsis thaliana* // *Plant J.*—1998.—16.—P. 411—419.
 74. Hudson M., Ringli C., Boylan M. T., Quail P. H. The *FAR1* locus encodes a novel nuclear protein specific to phytochrome A signaling // *Genes and Develop.*—1999.—13.—P. 2017—2027.
 75. Hoecker U., Xu Y., Quail P. H. *SPA1*: a new genetic locus involved in phytochrome A-specific signal transduction // *Plant Cell.*—1998.—10.—P. 19—33.
 76. Halliday K. J., Hudson M. Ni., Qin M., Quail P. H. *poc1*: an *Arabidopsis* mutant perturbed in phytochrome signaling because of T-DNA insertion in the promoter of *PIF3*, a gene encoding a phytochrome-interacting bHLH protein // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1999.—96.—P. 5832—5837.
 77. Steindler C., Matteucci A., Sessa G., Weimar T., Ohgishi M., Aoyama T., Morelli G., Ruberti I. Shade avoidance responses are mediated by the ATHB-2 HD-Zip protein, a negative regulator of gene expression // *Development.*—1999.—126.—P. 4235—4245.
 78. Adamska I. ELIPs: light-induced stress proteins // *Physiol. Plant.*—1997.—100.—P. 794—805.
 79. Grimm B., Kloppstech K. The early light-inducible proteins of barley: characterization of two families of 2-h-specific nuclear-coded chloroplast proteins // *Eur. J. Biochem.*—1987.—167.—P. 439—509.
 80. Adamska I., Roobol-Boza M., Lindahl M., Andersson B. Isolation of pigment-binding early light-inducible proteins from pea // *Eur. J. Biochem.*—1999.—260.—P. 453—460.
 81. Deng X. W., Quail P. Signaling in light-controlled development // *Cell Develop. Biol.*—1999.—10.—P. 121—129.
 82. Wei N., Deng X. W. Making sense of the COP9 signalosome. A regulatory protein complex conserved from *Arabidopsis* to human // *Trends Genet.*—1999.—15.—P. 98—103.
 83. Osterland M. T., Ang L. H., Deng X. W. The role of COP1 in repression of *Arabidopsis* photomorphogenic development // *Trends Cell Biol.*—1999.—9.—P. 113—118.
 84. Ang L. H., Chattopadhyay S., Wei N., Oyama T., Okada K., Batschauer A., Deng X. W. Molecular interaction between COP1 and HYS defines a regulatory switch for light control of *Arabidopsis* development // *Mol. Cell.*—1998.—1.—P. 213—222.
 85. Hagen G., Martin G., Li Y., Guifoyle T. J. Auxin-induced expression of the soybean *GH3* promoter in transgenic tobacco plants // *Plant Mol. Biol.*—1991.—17.—P. 567—579.
 86. Peng Z., Serino G., Deng X. W. Molecular characterization of subunit 6 of the COP9 signalosome and its role in multifaceted developmental processes in *Arabidopsis* // *Plant Cell.*—2001.—13.—P. 2393—2407.
 87. Oyama T., Shimura Y., Okada K. The *Arabidopsis* *HYS* gene encodes a bZIP protein that regulates stimulus-induced development of root and hypocotyl // *Genes Develop.*—1997.—11.—P. 2983—2995.
 88. Pepper A. E., Seong-Kim M., Hebst S. M., Ivey K. N., Kwak S. J., Broyles D. E. *shl*, a new set of *Arabidopsis* mutants with exaggerated developmental responses to available red, far-red, and blue light // *Plant Physiol.*—2001.—127, N 1.—P. 295—304.
 89. Komeili A., O'Shea E. K. Roles of phosphorylation sites in regulating activity of the transcription factor Pho4 // *Science.*—1999.—284.—P. 977—980.
 90. Chory J. Light modulation of vegetative development // *Plant Cell.*—1997.—9.—P. 1225—1234.
 91. Kende H., Zeevart J. A. D. The five classical plant hormones // *Plant Cell.*—1997.—9.—P. 1197—1210.
 92. McGrath R. B., Ecker J. R. Ethylene signaling in *Arabidopsis*: events from the membrane to the nucleus // *Plant Physiol. Biochem.*—1998.—36.—P. 103—113.
 93. Jacobsen S. E., Olszewski N. E. Mutations at the *SPINDLY* locus of *Arabidopsis* alter gibberellin signal transduction // *Plant Cell.*—1993.—5.—P. 887—896.
 94. Jackson S. D., James P., Prat S., Thomas B. Phytochrome B affects the levels of a graft-transmissible signal involved in tuberization // *Plant Physiol.*—1998.—117.—P. 29—32.
 95. Li J., Chory J. Brassinosteroid actions in plants // *J. Exp. Bot.*—1999.—50.—P. 275—282.
 96. Neff M. M., Nguyen S. M., Malancharuvil E. J., Fujioka S., Noguchi T., Seto H., Tsubuki M., Honda T., Takasuto S., Yoshida S., Chory J. *BASI*: A gene regulating brassinosteroid

- levels and light responsiveness in *Arabidopsis* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1999.—96.—P. 15316—15323.
97. Kim B. C., Soh M. S., Hong S. H., Furuya M., Nam H. G. Photomorphogenic development of the *Arabidopsis shy2-1D* mutation and its interaction with phytochromes in darkness // Plant J.—1998.—15.—P. 61—68.
 98. Tian Q., Reed J. W. Control of auxin-regulated root development by the *Arabidopsis thaliana SHY2/IAA3* gene // Development.—1999.—126.—P. 711—721.
 99. Schultz T. F., Kiyosue T., Yanovsky M., Wada M., Kay S. A. A role for LKP2 in the circadian clock of *Arabidopsis* // Plant Cell.—2001.—13.—P. 2659—2670.
 100. Devlin P. F., Kay S. A. Cryptochromes are required for phytochrome signaling to the circadian clock but not for rhythmicity // Plant Cell.—2000.—12.—P. 2499—2510.
 101. Engelmann W., Simon K., Phen C. J. Leaf movement rhythm in *Arabidopsis thaliana* // Z. Naturforschung.—1992.—47.—P. 925—928.
 102. Dowson-Day M. J., Millar A. J. Circadian dysfunction causes aberrant hypocotyl elongation patterns in *Arabidopsis* // Plant J.—1999.—17.—P. 63—71.
 103. Schaffer R., Ramsay N., Samach A., Corden S., Putterill J., Carre I. A., Coupland G. The late elongated hypocotyl mutation of *Arabidopsis* disrupts circadian rhythms and the photoperiodic control of flowering // Cell.—1998.—93.—P. 1219—1229.
 104. Somers D. E., Devlin P. F., Kay S. A. Phytochromes and cryptochromes in the entrainment of the *Arabidopsis* circadian clock // Science.—1998.—282.—P. 1488—1490.
 105. Somers D. E., Schultz T. F., Milnamow M., Kay S. A. *ZEITLUPE* encodes a novel clock-associated PAS protein from *Arabidopsis* // Cell.—2000.—101.—P. 319—329.
 106. Nelson D. S., Lasswell J., Rogg L. E., Cohen M. A., Bartel B. *FKF1*, a clock-controlled gene that regulates the transition to flowering in *Arabidopsis* // Cell.—2000.—101.—P. 331—340.
 107. Strayer C. A., Oyama T., Schultz T. F., Raman R., Somers D. E., Mas P., Panda S., Kreps J. A., Kay S. A. Cloning of the *Arabidopsis* clock gene *TOC1*, an autoregulatory response regulator homolog // Science.—2000.—289.—P. 768—771.
 108. Wang Z. Y., Tobin E. M. Constitutive expression of the *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1)* gene disrupts circadian rhythms and suppresses its own expression // Cell.—1998.—93.—P. 1207—1217.
 109. Covington M. F., Panda S., Strayer C. A., Kay S. A., Wagner D. R. ELF3 modulates resetting of the circadian clock in *Arabidopsis* // Plant Cell.—2001.—13.—P. 1305—1316.
 110. Fowler S., Lee K., Onouchi H., Samach A., Richardson K., Morris B., Coupland G., Putterill J. *GIGANTEA*: a circadian clock-controlled gene that regulates photoperiodic flowering in *Arabidopsis* and encodes a protein with several possible membrane-spanning domains // EMBO J.—18.—P. 4679—4688.
 111. Adams J., Kelso R., Cooley L. The kelch repeat superfamily of proteins: propellers of cell function // Trends Cell Biol.—10.—P. 17—24.
 112. Gu Y. Z., Hogenesch J. B., Bradfield C. A. The PAS superfamily: sensors of environmental and developmental signals // Annu. Rev. Pharmacol. and Toxicol.—2000.—40.—P. 519—561.
 113. Galan J. M., Peter M. Ubiquitin-dependent degradation of multiple F-box proteins by an autocatalytic mechanism // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1999.—96.—P. 9124—9129.
 114. Skowrya D., Craig K. L., Tyers M., Elledge S. J., Harper J. W. F-box proteins are receptors that recruit phosphorylated substrates to the SCF ubiquitin-ligase complex // Cell.—1997.—91.—P. 209—219.
 115. Gray W. M., Estelle J. Function of the ubiquitin-proteasome pathway in auxin response // Trends Biochem. Sci.—2000.—25.—P. 133—138.
 116. Salomon M., Christie J. M., Knieb E., Lempert U., Briggs W. R. Photochemical and mutational analysis of FMN-binding domains of the plant blue light receptor, phototropin // Biochemistry.—2000.—39.—P. 9401—9410.
 117. Goosey L., Palecanda L., Sharrock R. A. Differential patterns of expression of the *Arabidopsis PHYB*, *PHYD* and *PHYE* phytochrome genes // Plant Physiol.—1997.—115.—P. 959—969.
 118. Kim L., Kircher S., Toth R., Adam E., Schafer E., Nagy F. Light-induced nuclear import of phytochrome-A: GFP fusion proteins is differentially regulated in transgenic tobacco and *Arabidopsis* // Plant J.—2000.—22.—P. 125—133.
 119. Millar A. M., Straume J., Chory N., Chua H., Kay S. The regulation or circadian period by phototransduction pathways in *Arabidopsis* // Science.—1995.—267.—P. 1163—1166.
 120. Harmer S. L., Hogenesch J. B., Straume M., Chang H. S., Han B., Zhu T., Wang X., Kreps J. A., Kay S. A. Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock // Science.—2000.—290.—P. 2110—2113.
 121. Schaffer R., Landgraf J., Accerbi M., Simon V. V., Larson M., Wisman E. Microarray analysis of diurnal and circadian-regulated genes in *Arabidopsis* // Plant Cell.—2001.—13.—P. 113—123.
 122. Kay S. A., Nagatani A., Keith B., Deak M., Furuya M., Chua N. H. Rice phytochrome is biologically active in transgenic tobacco // Plant Cell.—1989.—1.—P. 775—782.
 123. Zhong H. H., Resnick A. S., Straume M., McClung C. R. Effects of synergistic signaling by phytochrome A and cryptochrome 1 on circadian clock-regulated catalase expression // Plant Cell.—1997.—9.—P. 947—955.
 124. Robson P. R. H., Smith H. Fundamental and biotechnological applications of phytochrome transgenes // Plant Cell Environ.—1997.—20.—P. 831—839.
 125. Robson P. R. H., McCormac A. C., Irvine A. S., Smith H. Genetic engineering of harvest index in tobacco through overexpression of a phytochrome gene // Nat. Biotechnol.—1996.—14.—P. 995—998.
 126. Thiele A., Herold M., Lenk I., Quail P. H., Gatz C. Heterologous expression of *Arabidopsis* phytochrome B in transgenic potato influences photosynthetic performance and tuber development // Plant Physiol.—1999.—120.—P. 73—82.
 127. Olsen J. E., Junttila O., Nielsen J., Eriksson M. E., Martinussen I., Olsson O., Sandberg G., Moritz T. Ectopic expression of oat phytochrome A in hybrid aspen changes critical daylength for growth and prevents cold acclimatization // Plant J.—1997.—12.—P. 1339—1350.
 128. Kuno M., Muramatsu T., Hamazato F., Furuya M. Identification by large-scale screening of phytochrome regulated genes in etiolated seedlings of *Arabidopsis thaliana* using a fluorescent differential display technique // Plant Physiol.—2000.—122.—P. 15—24.