

На правах рукописи



**Дорошенко Анастасия Сергеевна**

**Регуляция экспрессии генов хлоропластных белков светом и  
цитокининами в ходе деэтиоляции *Arabidopsis thaliana***

1.5.21. – Физиология и биохимия растений

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Лаборатории экспрессии генома растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук.

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук

**Кузнецов Виктор Васильевич**

Официальные оппоненты:

**Кособрюхов Анатолий Александрович**

доктор биологических наук, старший научный сотрудник, руководитель Группы экологии и физиологии фототрофных организмов Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук.

**Захарова Екатерина Владимировна**

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории маркерной и геномной селекции растений федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии».

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова».

Защита диссертации состоится «15» декабря 2022 года в 13 часов на заседании Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций 24.1.138.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук по адресу: 127276, Москва, Ботаническая ул., 35. Телефон/факс: (499) 678-54-20; e-mail: [ifr@ippras.ru](mailto:ifr@ippras.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук и на сайте [www.ippras.ru](http://www.ippras.ru)

Автореферат разослан « » \_\_\_\_\_ 2022 года.

**Ученый секретарь диссертационного совета:**

кандидат биологических наук



**Азаркович Марина Ивановна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Исследование восприятия, передачи и реализации сигналов эндогенных и экзогенных факторов в регуляции формирования хлоропластов представляет собой актуальную фундаментальную проблему науки о растениях. Она предполагает изучение молекулярных механизмов контроля дифференцировки хлоропластов и поддержания их фотосинтетической активности. К настоящему времени основательно изучено влияние света и цитокининов (ЦК) на превращение этиопластов в хлоропласты, которые являются одной из важнейших мишеней действия этих двух факторов. Установлено, что ЦК активируют формирование ультраструктуры пластид, повышают активность хлоропластных ферментов и увеличивают накопление фотосинтетических пигментов при переходе растения от развития и роста в темноте к росту на свету. Однако, несмотря на значительный прогресс в понимании механизмов восприятия и передачи сигналов этих двух факторов, до сих пор не было проведено систематических исследований, позволяющих установить биологическую роль систем передачи светового сигнала в контроле экспрессии генов хлоропластных белков ядерного и пластидного кодирования при ЦК-зависимой деэтиоляции. Исследование данной проблемы актуально и перспективно, поскольку существуют отдельные факты, указывающие на возможность пересечения сигнальных путей света и ЦК в ходе деэтиоляции растений.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы явилось изучение роли важнейших компонентов светового сигналинга (*phyA* и/или *phyB*, *CRY1* и/или *CRY2*, *HY5*) в ходе цитокинин-зависимой деэтиоляции проростков *Arabidopsis thaliana*.

В соответствии с указанной целью были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать динамику содержания хлорофиллов на начальном этапе деэтиоляции растений *A. thaliana* дикого типа и нокаут-мутантов по генам рецепторов фитохромов *phyA* и *phyB*, криптохромов *CRY1* и *CRY2* и положительного регулятора деэтиоляции *транс*-фактора *HY5*;

2. Используя нокаут-мутанты *phyAphyB*, *cry1cry2* и *hy5* оценить участие рецепторов красного света – фитохромов А и/или В, рецепторов синего света – криптохромов 1 и/или 2 и *транс*-фактора *HY5* в ЦК-зависимой регуляции экспрессии генов, кодирующих хлоропластные белки, в ходе деэтиоляции *A. thaliana*;

3. Изучить влияние нокаут-мутаций по генам рецепторов света *phyA* и *phyB*, *CRY1* и *CRY2* и *транс*-фактора *HY5* на ультраструктуру пластид в ходе ЦК-зависимой деэтиоляции растений *A. thaliana*;

4. Провести поиск генов предполагаемых негативных регуляторных белков, участвующих в ЦК-зависимой деэтиоляции растений *A. thaliana*.

**Научная новизна.** С использованием нокаут-мутантов по восприятию светового сигнала впервые показан различный вклад двух типов рецепторов света в регуляцию процесса деэтиоляции: фитохромы А и/или В в большей мере опосредуют

светозависимую регуляцию экспрессии генов хлоропластных белков, накопление хлорофиллов и светозависимое увеличение размера пластид, чем рецепторы синего света криптохромы 1 и/или 2. Кроме того, компоненты светового сигналинга принимают участие в ЦК-зависимых эффектах в ходе деэтиоляции, оказывая влияние на накопление хлорофиллов, экспрессию генов пластидных белков и развитие ультраструктуры пластид. Наибольший эффект ЦК обнаруживается при инактивации генов рецепторов фитохромов А и/или В, минимальный эффект ЦК наблюдался на мутантах с инактивированными генами криптохромов 1 и/или 2.

Помимо участия в деэтиоляции, рецепторы света, по-видимому, влияют на развитие пластид и в условиях темноты. Инактивация генов *PHYA* и/или *PHYB* приводит к снижению уровня транскриптов генов хлоропластных белков и развитию этиопластов бóльшего размера. Вероятно, отсутствие фитохромов А и/или В у нокаут-мутанта *phyAphyB* приводит к формированию качественно других семян, в которых, например, может быть нарушен гормональный баланс, что впоследствии вызывает изменение развития проростков в условиях темноты.

Также впервые продемонстрировано подавление ЦК экспрессии генов негативных регуляторов фотоморфогенеза (*COPs*, *DET1* и *PIFs*) в условиях темноты, что может являться одним из возможных путей действия ЦК при формировании фотоморфогенного фенотипа в ходе этиоляции, а также может быть одной из причин ускорения деэтиоляции растений *A. thaliana*.

**Практическая значимость.** Результаты диссертационной работы расширяют понимание механизмов взаимодействия света и ЦК в ходе деэтиоляции *A. thaliana*, демонстрируя участие рецепторов света *phyA* и/или *phyB*, *CRY1* и/или *CRY2* и фактора транскрипции *HY5* в ЦК-зависимой регуляции экспрессии генов хлоропластных белков, накоплении хлорофиллов и формировании ультраструктуры хлоропласта. Понимание молекулярных механизмов дифференцировки хлоропластов под действием света и ЦК открывают новые возможности управления процессом деэтиоляции с целью ускорения формирования фотосинтетически-активных растений. Полученные результаты могут быть полезны в будущем в сельском хозяйстве и в биотехнологической промышленности, а также могут быть использованы при чтении лекций в ВУЗах биологического профиля.

**Апробация работы на научных мероприятиях.** Результаты диссертационной работы были представлены на семинаре молодых ученых в Институте физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН (Москва, 2018), IX Съезде общества физиологов растений «Физиология растений – основа создания растений будущего» (Казань, 2019), годовом собрании Общества физиологов растений России «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды» (Иркутск, 2018) и VI международной научной конференции PlantGen (Новосибирск, 2021).

**Список публикаций по теме диссертации.** По материалам диссертации опубликовано 9 работ, из которых 6 – статьи в рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объекта и методов исследований, изложения полученных результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы. Материалы диссертации изложены на 173 страницах машинописного текста и содержат 15 таблиц и 29 рисунков. Список цитируемой литературы включает 301 наименование, в т.ч. 299 иностранных.

**Положения, выносимые на защиту.**

1. Рецепторы красного света фитохромы А и/или В и рецепторы синего света криптохромы 1 и/или 2, а также *транс*-фактор HY5 принимают неравнозначное участие в процессе деэтиоляции *A. thaliana*. Основываясь на молекулярных, биохимических и морфологических показателях, можно заключить, что наибольшие изменения в ходе деэтиоляции опосредуют рецепторы красного света phyA и/или phyB и *транс*-фактор HY5, рецепторы синего света криптохромы 1 и/или 2 принимают меньшее участие.

2. Эффект ЦК на содержание хлорофиллов, экспрессию генов пластидных белков и развитие ультраструктуры пластид в ходе деэтиоляции зависит от генетического фона растений. Максимальное влияние ЦК оказывает на нокаут-мутанты с инактивированными генами рецепторов фитохромов А и В, а наименее чувствительными к экзогенному ЦК являются растения с инактивированными генами криптохромов 1 и 2.

3. Позитивный эффект ЦК в ходе деэтиоляции, вероятно, связан с ЦК-зависимым подавлением экспрессии генов негативных регуляторов фотоморфогенеза в ходе этиоляции (*COPs*, *DET1* и *PIFs*).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объект исследований.** Объектом исследования служили растения дикого типа *Arabidopsis thaliana* экотипа *Landsberg erecta* (*Ler*) и созданные на его основе нокаут-мутанты *phyAphyB* по генам рецепторов красного света *PHYA* и *PHYB*, *cry1cry2* по генам рецепторов синего света *CRY1* и *CRY2* и нокаут-мутант *hy5* по гену фактора транскрипции *HY5*.

**Выращивание растений *A. thaliana* и условия проведения опытов.** Для анализа экспрессии генов хлоропластных белков в ходе деэтиоляции семена растений дикого типа и нокаут-мутантов *phyAphyB*, *cry1cry2* и *hy5* высевали на жидкую питательную среду Мурасиге-Скуга (*Duchefa*, Нидерланды) без ЦК (0 мкМ *транс*-зеатин) и с добавлением 1 мкМ *транс*-зеатина (*PhytoTech Labs*, США). Семена

стратифицировали (3 дня, +4°C) в темноте и затем переносили на +22°C также в условия полной темноты. По истечении четырех суток с момента прорастания часть проростков дикого типа и нокаут-мутантов, выращенных как на питательной среде без ЦК, так и с добавлением *транс*-зеатина, фиксировали в жидком азоте в условиях слабого зеленого освещения (точка «0 ч»). Оставшуюся часть проростков переносили на белый свет с интенсивностью освещения  $120 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$  и температурой +22°C и фиксировали в жидком азоте спустя 3, 6, 9 и 16 ч освещения.

**Определение содержания хлорофиллов *a* и *b*.** Для количественной оценки содержания хлорофиллов в зеленеющих проростках спустя 3, 6, 9 и 16 часов деэтиоляции использовали метод спектрофлуориметрии. Содержание хлорофилла *a* и *b* определяли на спектрофлуориметре RF-5301PC (Shimadzu, Япония) при соответствующих длинах волн возбуждения и испускания для хлорофилла *a*  $\lambda_{\text{ex}} = 440 \text{ нм}$ ;  $\lambda_{\text{em}} = 600\text{-}800 \text{ нм}$ , и хлорофилла *b*  $\lambda_{\text{ex}} = 460 \text{ нм}$ ;  $\lambda_{\text{em}} = 600\text{-}800 \text{ нм}$ .

Для количественного определения содержания пигментов проводили ряд измерений для построения стандартной кривой. Навески коммерческого хлорофилла *a* и хлорофилла *b* (Serva, Германия) растворяли в заданном объеме 80% ацетона и подготавливали серию двукратных разведений, после чего определяли интенсивность флуоресценции пигмента в зависимости от концентрации. После построения стандартной кривой вычисляли коэффициент детерминации и определяли количественные значения концентрации хлорофиллов *a* и *b* в экспериментальных образцах в нг/100 проростков.

**Электронно-микроскопические исследования ультраструктуры пластид.** Морфологию пластид анализировали в этиолированных проростках («Темнота») и в растениях спустя 6 ч освещения («6 ч»). Семядольные листья фиксировали в 2% глutarовом альдегиде и 1% растворе OsO<sub>4</sub>. Контрастирование препаратов проводили в 2% растворе уранилацетата. Образцы полимеризовали в эпоксидной смоле. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме LKB3 (LKB, Швеция). Препараты просматривали на трансмиссионном электронном микроскопе LIBRA120 (ZEISS, Германия) при увеличении  $\times 4000$ . Морфометрический анализ пластид проводили с использованием программы ZEN (ZEISS, Германия): измеряли площадь пластиды, площадь проламеллярного тела и суммарную длину претилакоидных мембран. По каждому показателю измеряли не менее 90 пластид, вычисляли среднее значение и среднюю квадратичную ошибку.

**Методы молекулярного анализа.** Выделение суммарной РНК из проростков проводили с помощью набора «GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit» (Thermo Scientific, США). Чистоту и концентрацию полученных препаратов определяли на спектрофотометре Nanodrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, США). Очистку РНК от примеси ДНК проводили с использованием ДНКазы I (Thermo Scientific, США). кДНК

синтезировали с помощью обратной транскриптазы RevertAid (Thermo Scientific, США), используя праймеры «Oligo(dT)12-18» и «Random(dN)10» (Евроген, Россия). Полученный препарат кДНК использовали в качестве матрицы для полимеразной цепной реакции в реальном времени с ген-специфичными праймерами. Референсным геном служил ген «домашнего хозяйства» *UBQ10*. Каждый образец анализировали минимум в трех аналитических и трех биологических повторностях.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Участие рецепторов света *phyA* и/или *phyB*, и *CRY1* и/или *CRY2*, а также *транс*-фактора *HY5* в цитокинин-зависимой регуляции зеленения проростков *A. thaliana*. Одним из визуальных проявлений деэтиоляции является зеленение семядольных листьев вследствие светозависимого накопления фотосинтетических пигментов. Оценка содержания хлорофилла *a* в проростках дикого типа и нокаут-мутантов *phyAphyB*, *cry1cry2* и *hy5* показала, что свет стимулирует накопление пигмента (0 мкМ *транс*-зеатин), а обработка ЦК увеличивает содержание хлорофилла *a* во всех линиях (1 мкМ *транс*-зеатин) (Рис 1).

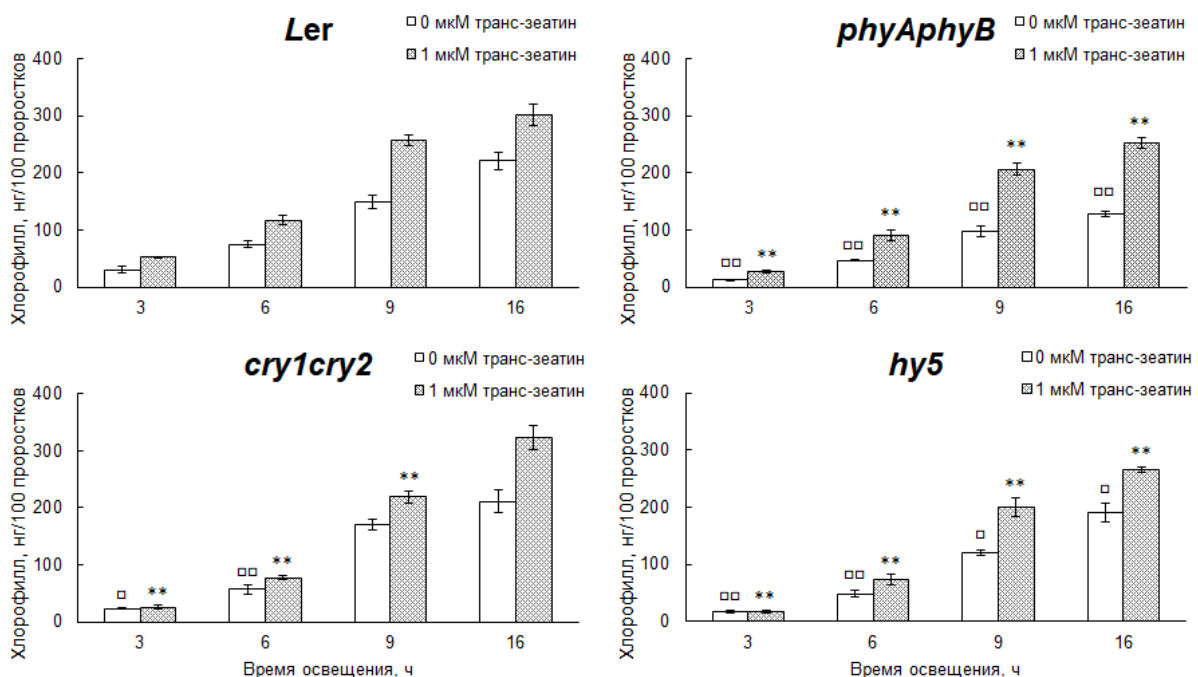


Рисунок 1. Влияние света и *транс*-зеатина на накопление хлорофилла *a* в 4-дневных этиолированных проростках *A. thaliana* дикого типа (*Ler*) и нокаут-мутантов *phyAphyB*, *cry1cry2* и *hy5*. □ – достоверные различия между средними значениями содержания хлорофилла *a* в проростках нокаут-мутантов vs в проростках дикого типа в ходе деэтиоляции при  $p \leq 0.05$ , □□ при  $p \leq 0.01$ ; \*\* – достоверные различия между средними значениями содержания хлорофилла *a* в проростках нокаут-мутантов vs в проростках дикого типа в ходе ЦК-зависимой деэтиоляции при  $p \leq 0.01$ .

В приведенных данных на рис. 1 очевидны различия между диким типом и нокаут-мутантом *phyAphyB* как в ходе деэтиоляции без ЦК, так и при ЦК-зависимом зеленении, однако такое представление данных затрудняет выявление имеющихся различий, к примеру, между диким типом и нокаут-мутантом *cry1cry2*, или между нокаут-линиями. Кроме того, из рис. 1, видно, что в большинстве экспериментальных точек нокаут-мутанты, обработанные гормоном, содержат меньше хлорофилла *a* в сравнении с уровнем пигмента у растений дикого типа, обработанных ЦК. Однако в каждом генотипе реакция на гормон определяется относительно уровня пигмента в проростках того же генотипа, не обработанного гормоном, поэтому ответная реакция нокаут-линий на ЦК может быть сопоставима с реакцией на *транс*-зеатин в проростках дикого типа, а сниженный уровень пигмента при ЦК-зависимой деэтиоляции у *phyAphyB*, *cry1cry2* и *hy5* будет обусловлен влиянием нокаут-мутаций.

Для более детального отображения разницы между диким типом и нокаут-мутантами различия были представлены в процентах. Различия между диким типом и нокаут-мутантом или «эффект мутации» определяли, как разницу между содержанием хлорофилла *a* в проростках дикого типа и нокаут-мутанта, выращенных на питательной среде без гормона, выраженную в процентах, т.е.

$$\frac{a}{b} = x \%, \text{ где}$$

*a* – хл. *a* нг/100 проростков нокаут-мутанта, не обработанных ЦК спустя определенное время освещения;

*b* – хл. *a*, нг/100 проростков дикого типа, не обработанных ЦК спустя определенное время освещения;

*x* – % содержания хлорофилла *a* в проростках нокаут-мутанта от количества хлорофилла *a* в растениях дикого типа, не обработанных ЦК спустя определенное время освещения.

В пределах каждой временной точки содержание пигмента в проростках дикого типа приравнивалось к 100%, относительно которого рассчитывали уровень хлорофилла *a* у мутантов *phyAphyB*, *cry1cry2* или *hy5*.

Например, спустя 16 ч освещения проростки дикого типа, не обработанные гормоном, содержат 221 нг/100 проростков, растения нокаут-мутанта *phyAphyB* – 128 нг/100 проростков, следовательно  $\frac{128}{221} = 58\%$ .

Таким образом, нокаут-мутант *phyAphyB* содержит 58% хлорофилла *a* от содержания пигмента в проростках дикого типа (100%) спустя 16 ч освещения. Следовательно, уровень пигмента в проростках *phyAphyB* на 42% меньше, чем уровень хлорофилла *a* в проростках дикого типа (Рис. 2). Аналогичный алгоритм расчета применяли к каждому нокаут-мутанту в каждой временной точке эксперимента.



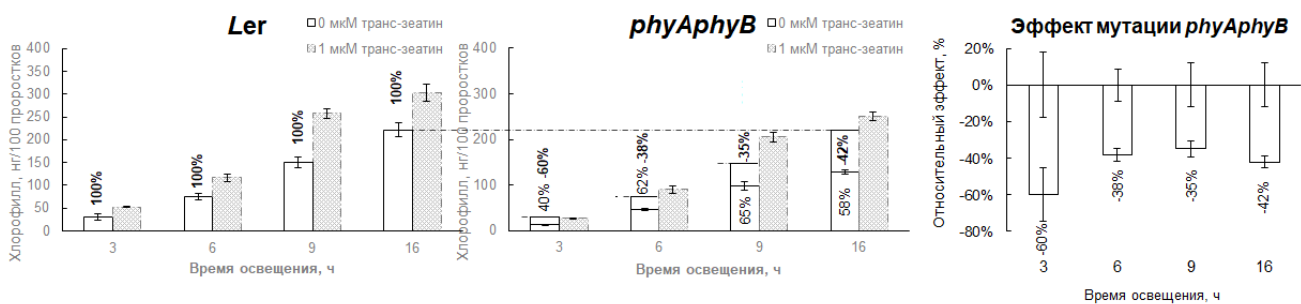


Рисунок 2. Пример расчета «эффекта мутации» у нокаут-мутанта *phyAphyB*

Такой анализ показал, что наибольшее влияние на содержание хлорофилла *a* оказывают мутации по генам *PHYA* и/или *PHYB* (Рис. 3). Инактивация *транс*-фактора HY5 в большей степени влияет на первых часах эксперимента, а отсутствие рецепторов синего света CRY1 и/или CRY2 оказывает наименьший эффект среди анализируемых линий (Рис. 3). Стоит отметить, что, по-видимому, наибольшее влияние нокаут-мутации по генам рецепторов и трансдуктора светового сигнала оказывают на начальных часах деэтиоляции.

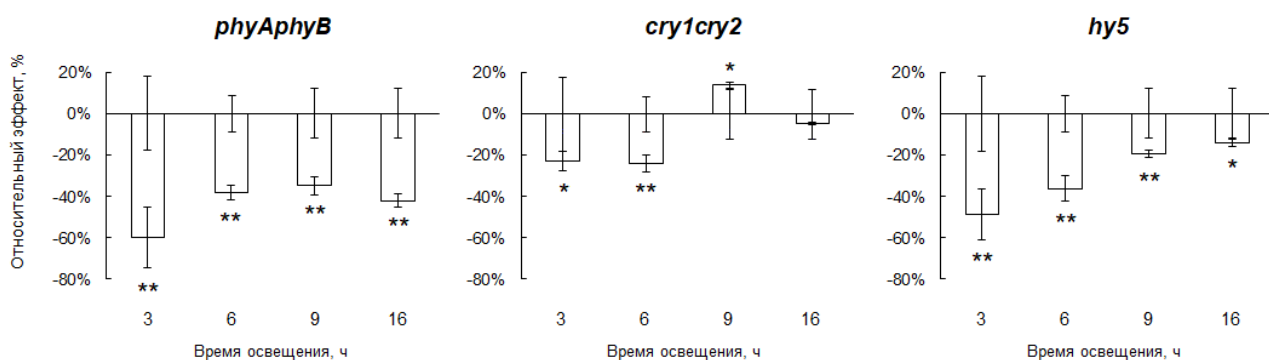


Рисунок 3. Относительный эффект мутаций по генам рецепторов *phyA* и/или *phyB*, CRY1 и/или CRY2 и трансдуктора HY5 на содержание хлорофилла *a* в ходе деэтиоляции *A. thaliana*, выраженный в процентах. \* – достоверные различия между средними значениями хлорофилла *a* в проростках нокаут-мутантов vs в проростках дикого типа при  $p \leq 0.05$ , \*\* при  $p \leq 0.01$

Подобным же способом рассчитывали влияние ЦК на содержание хлорофилла *a* в каждом генотипе в ходе деэтиоляции. Эффект гормона определяли, как разницу между содержанием хлорофилла *a* в проростках, не обработанных ЦК, и растениях, выращенных на питательной среде с *транс*-зеатином, выраженную в процентах т.е.

$$\frac{a}{b} = x \% , \text{ где}$$

*a* – хл. *a*, нг/100 проростков генотипа, обработанных ЦК спустя определенное время освещения;

*b* – хл. *a*, нг/100 проростков генотипа, выращенных на питательной среде без *транс*-зеатина, спустя определенное время деэтиоляции;

х – разница между содержанием хл. *a* в проростках генотипа, выращенных без гормона и в присутствии *транс*-зеатина, выраженная в процентах.

В пределах каждой временной точки содержание хлорофилла *a* в проростках генотипа, не обработанного гормоном, приравнивалось к 100%, относительно которых рассчитывалось содержание хлорофилла *a* в проростках, выращенных на питательной среде с ЦК.

Пример расчета приведен на рис. 4. В экспериментальной точке «16 ч» проростки нокаут-мутанта *phyAphyB*, обработанные *транс*-зеатином, содержат 251 нг хл. *a*/100 проростков *phyAphyB*, в то время как растения, не обработанные ЦК – 128 нг хл. *a* /100 проростков *phyAphyB*, следовательно  $\frac{251}{128} - 100\% = 96\%$ .

Таким образом, спустя 16 ч освещения проростки нокаут-мутанта *phyAphyB*, обработанные ЦК, содержат на 96% больше хлорофилла *a* чем растения *phyAphyB*, не обработанные *транс*-зеатином (Рис. 4). Сравнение проводили в пределах каждой временной точки каждого генотипа.

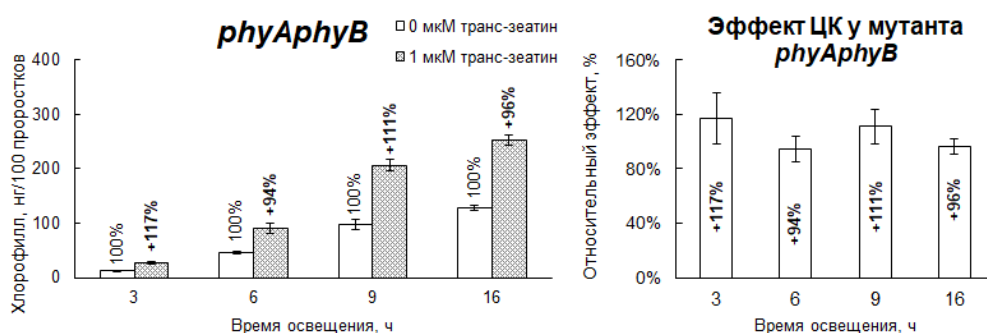


Рисунок 4. Пример расчета «эффекта ЦК» у нокаут-мутанта *phyAphyB*

Хорошо известно, что на фоне действия света ЦК стимулирует увеличение уровня хлорофиллов в зеленеющих проростках, а также позитивно регулирует содержание транскриптов генов, кодирующих ферменты биосинтеза фотосинтетического пигмента (Cortleven et al., 2016). Выращивание растений дикого типа и нокаут-мутантов на питательной среде с ЦК приводит к увеличению содержания хлорофилла *a* в ходе деэтиоляции (Рис. 1, 5). В сравнении с диким типом наибольшее положительное влияние *транс*-зеатина наблюдается у нокаут-мутанта *phyAphyB* – инактивация рецепторов красного света *phyA* и/или *phyB* приводит к бóльшему содержанию хлорофилла *a* в проростках *phyAphyB*, обработанных ЦК. Отсутствие рецепторов синего света *CRY1* и/или *CRY2* снижает ЦК-зависимое накопление пигмента в первых экспериментальных точках (Рис. 5). Нокаут-линия *hy5* отличается от дикого типа только спустя 3 ч освещения. Меньший эффект ЦК у мутанта *cry1cry2* можно объяснить существованием какого-либо ЦК-зависимого пути, который частично реализуется за счет рецепторов *CRY1* и/или *CRY2*, поскольку у нокаут-мутанта *cry1cry2* все же есть ответ на гормон.

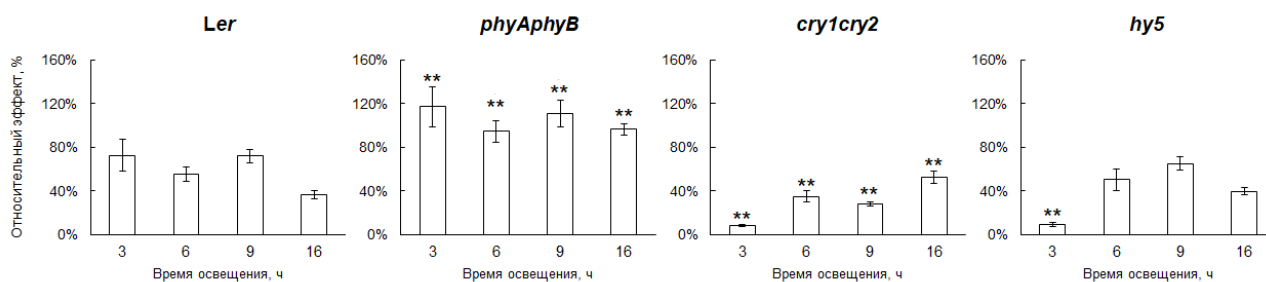


Рисунок 5. ЦК-зависимая реакция проростков дикого типа и нокаут-линий на содержание хлорофилла *a* в ходе деэтиоляции, выраженная в процентах. \*\* – достоверные различия между средними значениями ЦК-зависимого увеличения хлорофилла *a* в проростках нокаут-мутантов vs в проростках дикого типа *A. thaliana* в ходе деэтиоляции при  $p \leq 0.01$

Сходный вклад рецепторов и трансдуктора светового сигнала наблюдается в свето- и ЦК-зависимую регуляцию содержания хлорофилла *b*. Отсутствие рецепторов *phyA* и/или *phyB* негативно влияет на увеличение содержания хлорофилла *b*, а инактивация рецепторов синего света *CRY1* и/или *CRY2* оказывает незначительное влияние на накопление пигмента в ходе зеленения.

Пониженное содержание хлорофиллов у нокаут-мутантов *phyAphyB* и *hy5* в ходе деэтиоляции подтверждается значительно пониженным уровнем транскриптов генов, кодирующих ферменты биосинтеза хлорофилла, а именно тРНК, связывающую глутамил (*trnE*), глутамил-тРНК-редуктазу (*HEM1A*) и Н-субъединицу Mg-хелатазного комплекса (*GUN5*) (Рис. 6). Наиболее яркий негативный эффект нокаут-мутации оказывают на содержание транскриптов генов (*trnE* и *HEM1A*), продукты которых катализируют ключевой этап биосинтеза тетрапирролов – образование аминоклевулиновой кислоты (McCormac and Terry, 2002).

Инактивация рецепторов синего света оказывает однозначный негативный эффект только на светозависимую регуляцию экспрессии гена *trnE*, и, в то же время, незначительно влияет на уровень транскриптов *HEM1A* и *GUN5* в ходе деэтиоляции (Рис. 6). Отсутствие рецепторов синего света так же приводит к увеличению содержания транскриптов генов НАДФН-протохлорофиллид-оксидоредуктаз (*PORA* и *PORB*) (Рис. 6). Можно предположить, что негативный эффект отсутствия рецепторов *CRY1* и/или *CRY2* на уровень матриц гена *trnE* компенсируется позитивной регуляцией экспрессии других генов ферментов биосинтеза хлорофилла (*GUN5*, *PORA* и *PORB*) (Рис. 6), что, в конечном итоге приводит к незначительным отличиям между зеленением проростков дикого типа и нокаут-мутанта *cry1cry2* (Рис. 3).

Инактивация генов криптохромов 1 и/или 2 приводит к снижению ЦК-зависимой позитивной регуляции экспрессии генов, кодирующих тРНК (*trnE*), глутамил-тРНК-редуктазу (*HEM1A*), Н-субъединицу Mg-хелатазного комплекса (*GUN5*) и гены НАДФН-протохлорофиллид-оксидоредуктаз (*PORA* и *PORB*) в первые часы зеленения

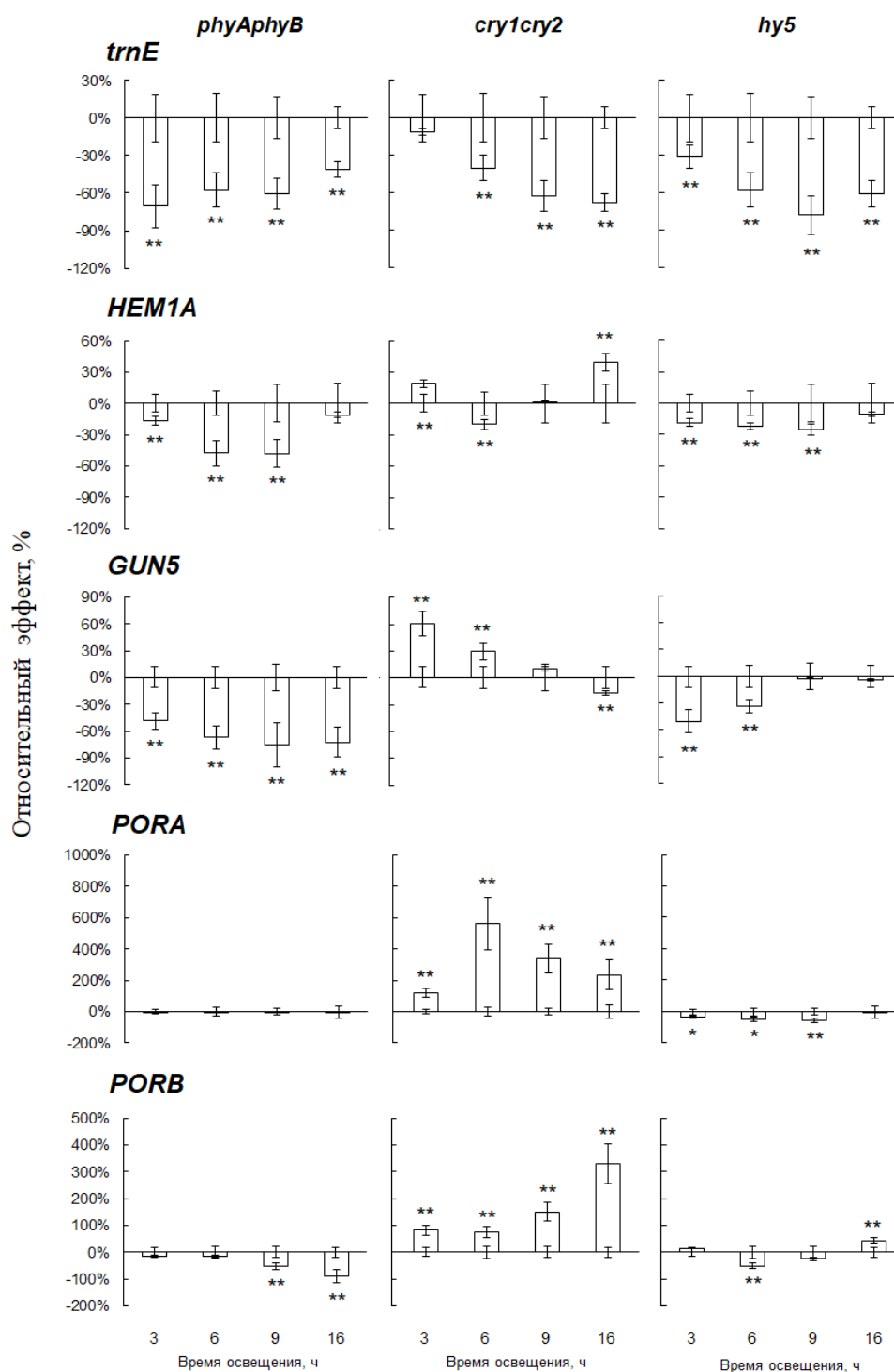


Рисунок 6. Относительное влияние мутаций по генам *PHYA* и/или *PHYB*, *CRY1* и/или *CRY2*, и *HY5* на содержание транскриптов генов *trnE*, *HEM1A*, *GUN4*, *GUN5*, *PORA* и *PORB* в ходе деэтиоляции *A. thaliana*. \* – достоверные различия между средними значениями экспрессии генов в проростках нокаут-мутантов vs в проростках дикого типа при  $p \leq 0.05$ , \*\* при  $p \leq 0.01$

(Рис. 7). Такая незначительная регуляция *транс*-зеатином экспрессии генов биосинтеза хлорофилла у нокаут-мутанта *cry1cry2* согласуется со сниженным ЦК-зависимым накоплением пигментов у линии *cry1cry2* в сравнении с диким типом (Рис. 1, 5).

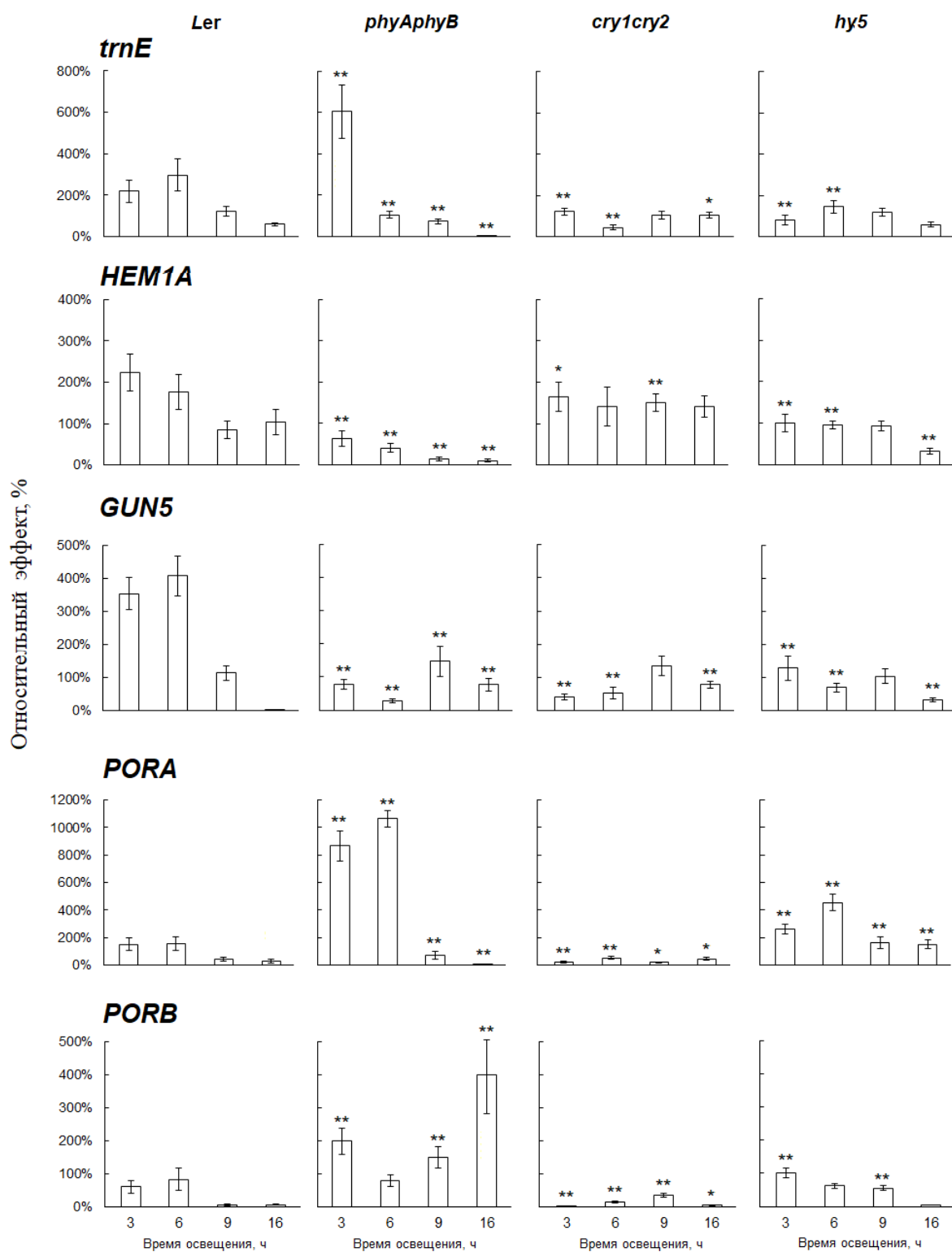


Рисунок 7. Относительная ЦК-зависимая регуляция содержания транскриптов генов, кодирующих ферменты биосинтеза хлорофилла в проростках дикого типа и нокаут-мутантов в ходе зеленения *A. thaliana*, выраженная в процентах. \* – достоверные различия между средними значениями цитокинин-зависимого уровня транскриптов в проростках нокаут-мутантов vs в проростках дикого типа *A. thaliana* в ходе деэтиоляции при  $p \leq 0.05$ , \*\* при  $p \leq 0.01$

Наиболее яркую регуляцию *транс*-зеатином уровня хлорофиллов *a* и *b* в проростках *phyAphyB* в сравнении с диким типом (Рис. 5) может частично объяснить ЦК-зависимая активация экспрессии генов *PORA* и *PORB* у нокаут-мутанта *phyAphyB* (Рис. 7). Это позволяет предположить, что фитохромы А и/или В негативно влияют на ЦК-зависимую регуляцию уровня хлорофиллов в ходе деэтиоляции *A. thaliana* (Рис. 5, 7). Несмотря на пониженные уровни как фотосинтетических пигментов, так и транскриптов генов ферментов биосинтеза хлорофилла в проростках *phyAphyB*, не обработанных гормоном, обработка ЦК приводит к более яркой реакции на гормон у нокаут-линии *phyAphyB* в сравнении с эффектом ЦК на проростки других линий в ходе зеленения (Рис. 5).

**Роль рецепторов *phyA* и/или *phyB*, *CRY1* и/или *CRY2* и *транс*-фактора *HY5* в ЦК-зависимой регуляции экспрессии генов фотосинтетических белков в ходе деэтиоляции *A. thaliana*.** Светозависимое формирование тилакоидных мембран хлоропластов неразрывно связано с накоплением фотосинтетических белков. Сравнение эффектов нокаут-мутаций по генам рецепторов фитохромов А и В, криптохромов 1 и 2 и *транс*-фактору *HY5*, показало, что *phyA* и/или *phyB* оказывают большее влияние на светозависимое увеличение уровня транскриптов пластидных генов, кодирующих белки реакционных центров ФС I (*psaA*) и II (*psbA* и *psbD*) и субъединицу РБФК (*rbcL*) (Рис. 8). *Транс*-фактор *HY5* принимает меньшее участие, регулируя экспрессию генов *psbA*, *psbD* и *rbcL*. Нокаут-мутации по генам *CRY1* и *CRY2* оказывают наименьшее влияние на светозависимое изменение уровней транскриптов анализируемых фотосинтетических генов (Рис. 8).

Известно, что на фоне действия света ЦК стимулирует транскрипцию пластидных генов в листьях 9-дневных растений *Hordeum vulgare* (Zubo et al., 2008). Результаты экспериментов показали, что нокаут-мутации по генам рецепторов и трансдуктора светового сигнала изменяют динамику содержания транскриптов, вследствие чего затруднительно оценить степень влияния ЦК на экспрессию фотосинтетических генов у линий *phyAphyB*, *cry1cry2* и *hy5* (Рис. 9).

Тем не менее, влияние ЦК в большей степени опосредуется *транс*-фактором *HY5*. Отсутствие *phyA* и/или *phyB* и *CRY1* и/или *CRY2* в незначительной степени влияет на эффект ЦК на экспрессию фотосинтетических генов в ходе деэтиоляции *A. thaliana*.

**Участие рецепторов *phyA* и/или *phyB*, *CRY1* и/или *CRY2* и *транс*-фактора *HY5* в ЦК-зависимом формировании ультраструктуры хлоропластов в ходе деэтиоляции *A. thaliana*.** Свет инициирует формирование типичной ультраструктуры хлоропластов (Cortleven et al., 2016), однако отдельный вклад рецепторов красного и синего света, а также *транс*-фактора *HY5* в данный процесс неизвестен.

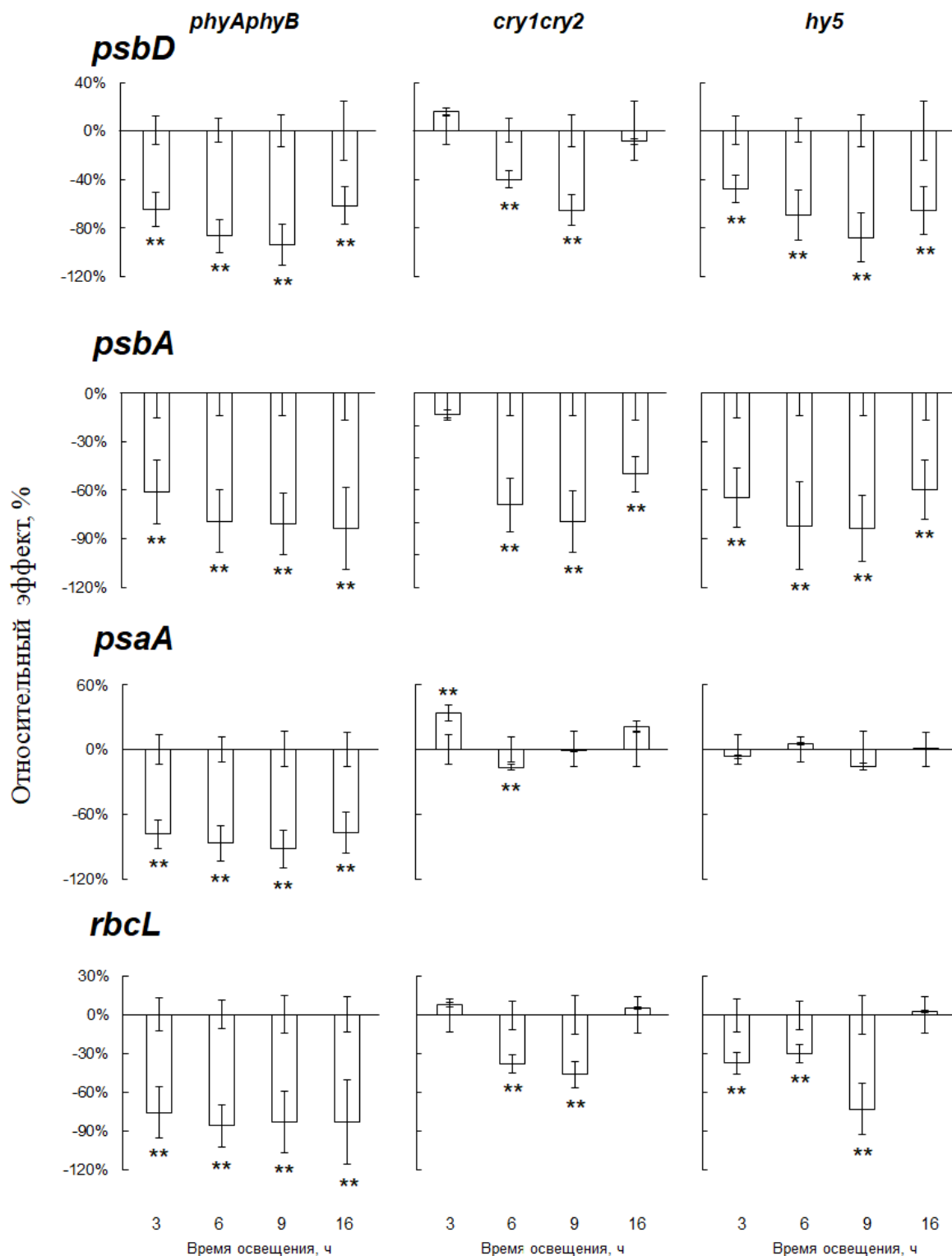


Рисунок 8. Влияние мутаций по генам фитохромов А и/или В, криптохромов 1 и/или 2 и *транс*-фактору *HY5* на уровень транскриптов генов, кодирующих фотосинтетические белки в ходе деэтиоляции *A. thaliana*. \* – достоверные различия между средними значениями экспрессии генов в проростках нокаут-мутантов vs в проростках дикого типа при  $p \leq 0.05$ , \*\* при  $p \leq 0.01$

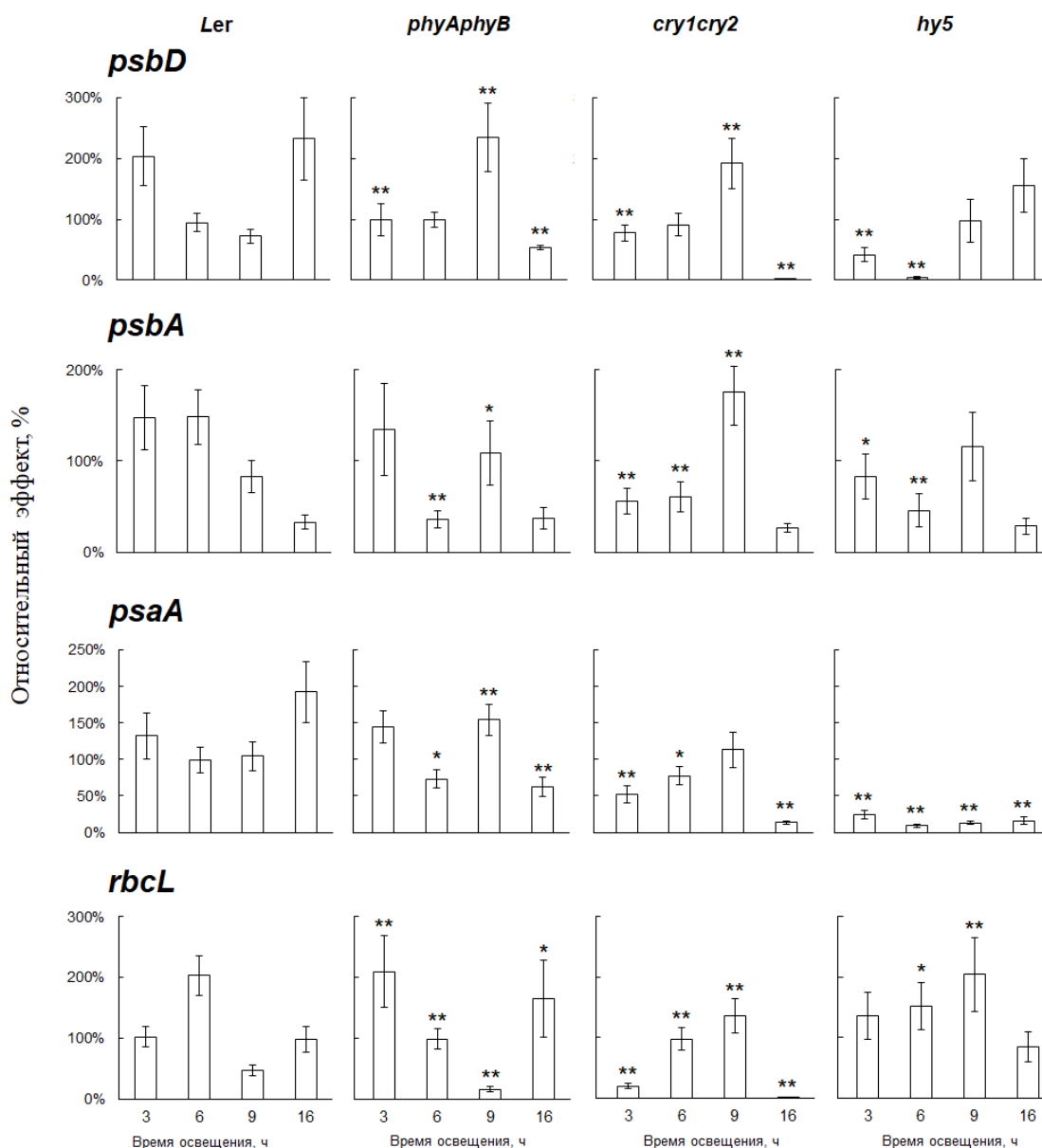


Рисунок 9. Влияние нокаут-мутаций по генам *PHYA* и/или *PHYB*, *CRY1* и/или *CRY2* и *HY5* на ЦК-зависимую регуляцию содержания транскриптов фотосинтетических генов в ходе деэтиоляции *A. thaliana*. \* – достоверные различия между средними значениями ЦК-зависимого уровня транскриптов в проростках нокаут-мутантов vs в проростках дикого типа *A. thaliana* в ходе деэтиоляции при  $p \leq 0.05$ , \*\* при  $p \leq 0.01$

Известно, что в первые 24-42 ч деэтиоляции происходит формирование ультраструктуры хлоропластов и увеличение размера органелл (Pipitone et al., 2021). Рецепторы фитохромы А и/или В, по-видимому, регулируют светозависимое увеличение площади пластид. Инактивация генов рецепторов у нокаут-мутанта *phyAphyB* приводит к отсутствию светозависимого роста пластид, в то время как органеллы семядольных листьев проростков *cry1cry2* (у которых функционально активна система восприятия красного света) значительно увеличиваются на белом



свету в течение 6 ч (Рис. 10). *Транс*-фактор HY5 принимает несколько меньшее участие в светозависимом увеличении площади пластид.

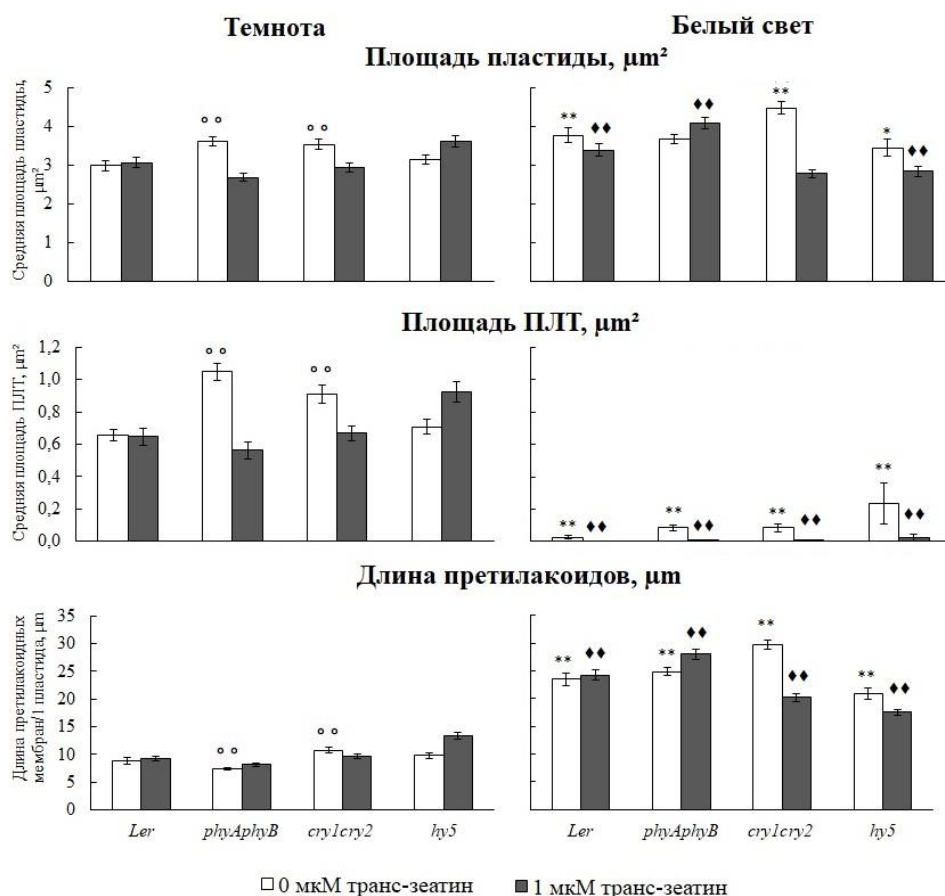


Рисунок 10. Изменение ультраструктуры пластид под действием света и ЦК в проростках *A. thaliana* дикого типа и нокаут-мутантов *phyAphyB*, *cry1cry2* и *hy5*. \* – достоверные различия между средними значениями морфометрических показателей пластид в проростках дикого типа и нокаут-мутантов в условиях темноты vs в проростках дикого типа и нокаут-мутантов спустя 6 ч освещения белым светом при  $p \leq 0.05$ , \*\* при  $p \leq 0.01$ ; ♦♦ – достоверные различия между средними значениями морфометрических показателей пластид в проростках дикого типа и нокаут-мутантов, обработанных ЦК, в условиях темноты vs в проростках дикого типа и нокаут-мутантов спустя 6 ч ЦК-зависимой деэтиоляции при  $p \leq 0.01$ ; °° - достоверные различия между средними значениями морфометрических показателей этиопластов в проростках дикого типа vs нокаут-мутантов при  $p \leq 0.01$

Свет определяет формирование ультраструктуры хлоропластов (Cortleven et al., 2016). Проламеллярное тело (ПЛТ) является предшественником тилакоидных мембран и его исчезновение коррелирует с образованием внутренних мембран хлоропластов (Pipitone et al., 2021). Рецепторы света фитохромы А и/или В и криптохромы 1 и/или 2 примерно в равной степени участвуют в процессе исчезновения ПЛТ (Рис. 10). В

сравнении с системами восприятия света, *транс*-фактор HY5 значительно больше необходим для своевременного исчезновения ПЛТ (Рис. 10).

Известно, что на фоне действия света ЦК ускоряет формирование ультраструктуры хлоропластов (Cortleven et al., 2016). По нашим данным пластиды растений дикого типа, выращенные на питательной среде без ЦК, спустя 6 ч освещения содержат небольшое ПЛТ и формируют претилакоидные мембраны (средняя длина претилакоидов на органеллу  $23,5 \pm 1 \mu\text{m}$ ), в то время как растения, обработанные ЦК, содержат органеллы без ПЛТ, но с таким же количеством претилакоидных мембран (средняя длина претилакоидов на органеллу  $24,2 \pm 0,9 \mu\text{m}$ ) (Рис. 10).

Известно, что ЦК стимулирует деление хлоропластов: обработка ЦК проростков *A. thaliana* приводит к увеличению количества и уменьшению размеров хлоропластов (Okazaki et al., 2009). В наших опытах обработка *транс*-зеатином растений дикого типа приводит к несколько меньшим размерам органелл, что может явиться следствием ЦК-зависимого деления пластид, однако данное предположение требует дополнительной проверки. Тем не менее, ЦК-зависимое исчезновение ПЛТ и меньшие размеры органелл в проростках дикого типа указывают на то, что под действием гормона хлоропласты формируют более плотную структуру внутренних мембран (Рис. 10).

ЦК-зависимое исчезновение ПЛТ в ходе деэтиоляции частично опосредуют компоненты светового сигналинга, тем не менее, влияние ЦК на размер ПЛТ во всех нокаут-линиях значительно (Рис. 10). Меньшая площадь пластид под действием *транс*-зеатина, вероятно, опосредована фитохромами А и/или В. Учитывая, что в основе меньшего размера хлоропластов под действием гормона лежит их ЦК-зависимое деление (Okazaki et al., 2009), можно предположить, что phyA и/или phyB участвуют в контроле данного эффекта.

Подводя итог, можно сделать вывод, что фитохромы А и/или В вносят наибольший вклад в светозависимую регуляцию биосинтеза хлорофилла, экспрессию генов хлоропластных белков, а также участвуют в контроле светозависимого увеличения площади хлоропластов. Криптохромы 1 и/или 2 в меньшей степени опосредуют процесс деэтиоляции. *Транс*-фактор HY5 также принимает участие в контроле биосинтеза хлорофилла и экспрессии генов хлоропластных белков, однако большее влияние оказывает на формирование ультраструктуры хлоропластов.

Наибольший эффект ЦК выявлен при инактивации генов *PHYA* и/или *PHYB*, минимальный эффект оказывает ЦК на мутанты с инактивированными генами *CRY1* и/или *CRY2*. *Транс*-фактор HY5 занимает в этом отношении среднее положение.

**Вклад компонентов светового сигналинга phyA и/или phyB, CRY1 и/или CRY2 и *транс*-фактора HY5 в ЦК-зависимую регуляцию экспрессии генов хлоропластных белков в ходе этиоляции *A. thaliana*.** Поскольку фокус работы сосредоточен на выявлении участия фитохромов А и/или В, криптохромов 1 и/или 2 и

*транс*-фактора NY5 в реализации цитокинин-зависимых эффектов в ходе деэтиоляции мы не акцентировали особого внимания на точке «0 часов», то есть на результатах, полученных на этиолированных проростках, выращенных на цитокинине.

В свою очередь хорошо известно, что выращивание растений *A. thaliana* в условиях темноты на питательной среде с ЦК приводит к формированию фотоморфогенного фенотипа. Растения, обработанные ЦК, имеют укороченный гипокотиль, развивают настоящие листья, формируют пластиды, не содержащие ПЛТ (Chory et al., 1994). Анализ литературы по влиянию ЦК на деэтиоляцию показал, что все исследователи прибегали к длительной предобработке гормоном в условиях темноты (Kusnetsov et al., 1998; Vandebussche et al., 2007; Cortleven et al., 2016). Это может означать, что эффекты ЦК в ходе деэтиоляции могут явиться следствием влияния ЦК на этиолированное развитие растений.

Подтверждением этого предположения является то, что все анализируемые нами гены, кодирующие хлоропластные белки, в проростках дикого типа в условиях темноты имеют повышенный уровень транскриптов под действием ЦК (Рис. 11), и далее, как уже было рассмотрено, в ходе деэтиоляции. Из этого возникают два вопроса: является ли ЦК-зависимое ускорение деэтиоляции следствием действия ЦК в условиях темноты и участвуют ли компоненты светового сигналинга в реализации действия ЦК в ходе этиоляции?

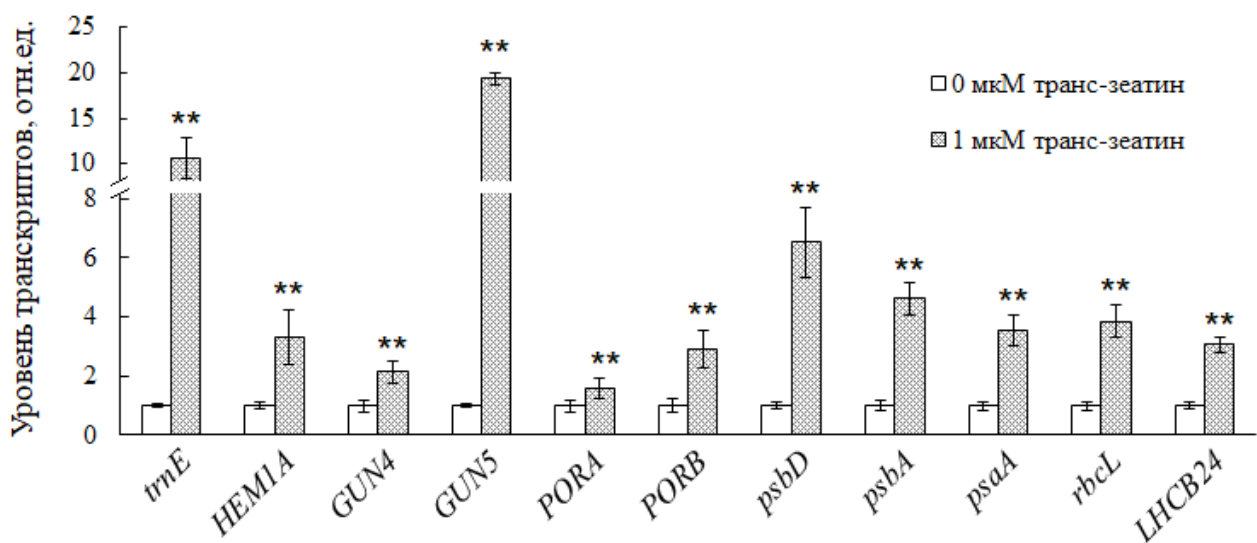


Рисунок 11. Влияние ЦК на уровень транскриптов генов, кодирующих хлоропластные белки в 4-дневных этиолированных проростках дикого типа *A. thaliana*. \*\* – достоверные различия между средними значениями содержания транскриптов генов хлоропластных белков в этиолированных проростках дикого типа, не обработанных ЦК vs в проростках дикого типа, выращенных на питательной среде с *транс*-зеатином в условиях темноты при  $p \leq 0.01$

Наши результаты показали изменение ЦК-зависимой регуляции экспрессии генов хлоропластных белков под действием нокаут-мутаций по генам рецепторов и трансдуктора светового сигнала в ходе этиолированного развития (Рис. 12). Инактивация рецепторов света фитохромов А и/или В приводит к увеличению ЦК-зависимого уровня транскриптов большинства анализируемых генов хлоропластных белков, а отсутствие *транс*-фактора HY5, наоборот, к снижению (Рис. 12). Такой результат указывает на то, что в условиях темноты компоненты сигналинга света каким-либо образом участвуют в ЦК-зависимой регуляции экспрессии генов хлоропластных белков. Можно предположить, что ЦК действует на мишень, расположенную в пути передачи сигнала между рецепторами и *транс*-фактором HY5.

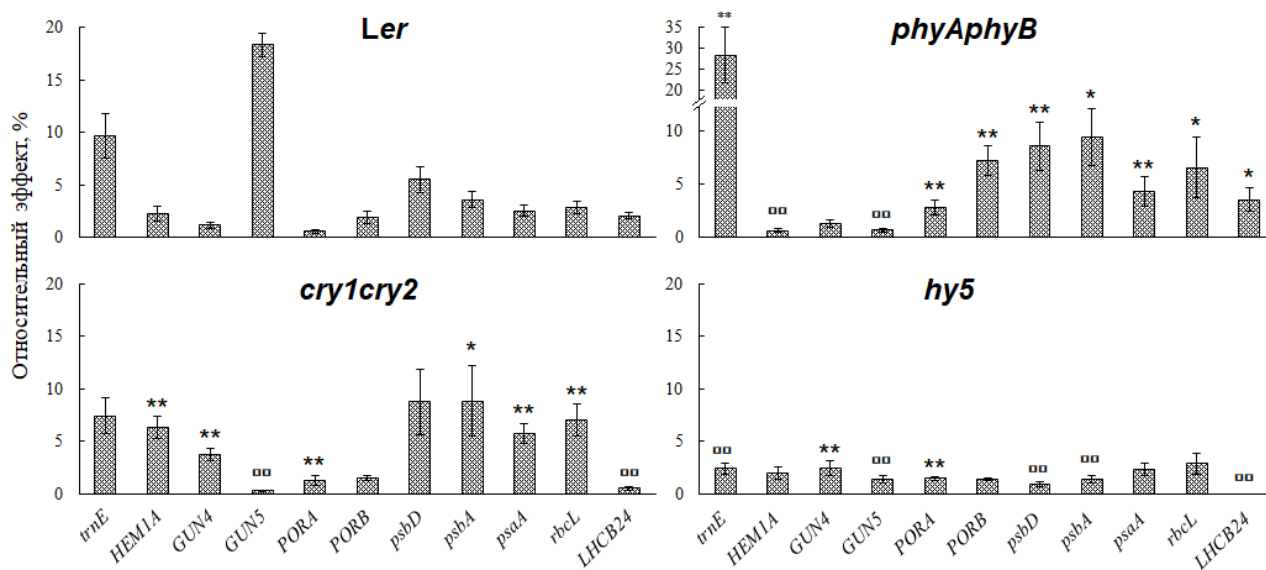


Рисунок 12. Влияние ЦК на экспрессию генов хлоропластных белков в этиолированных проростках дикого типа и нокаут-мутантов *phyAphyB*, *cry1cry2* и *hy5* *A. thaliana*. \* – достоверное увеличение относительной ЦК-зависимой реакции на уровне экспрессии генов хлоропластных белков в проростках нокаут-мутантов в сравнении с таковой в проростках дикого типа *A. thaliana*  $p \leq 0.05$ , \*\* при  $p \leq 0.01$ ; □ – достоверное снижение относительной ЦК-зависимой реакции на экспрессию генов хлоропластных белков в проростках нокаут-мутантов в сравнении с таковой в проростках дикого типа *A. thaliana*  $p \leq 0.05$ , □□ при  $p \leq 0.01$ .

В цепи передачи светового сигнала между рецепторами и трансдуктором HY5 расположены негативные регуляторы фотоморфогенеза – две группы белков COP/DET/FUS и PIFs. Наши эксперименты показали, что в проростках дикого типа ЦК подавляет экспрессию генов всех анализируемых нами негативных регуляторов, а именно *COP1*, *COP8-COP12*, *DET1*, *PIF1-PIF7* (Рис. 13). Интересно отметить, что инактивация генов негативных регуляторов приводит к однонаправленным с действием ЦК физиологическим эффектам. Высокая концентрация ЦК (60 и 75 мкМ)

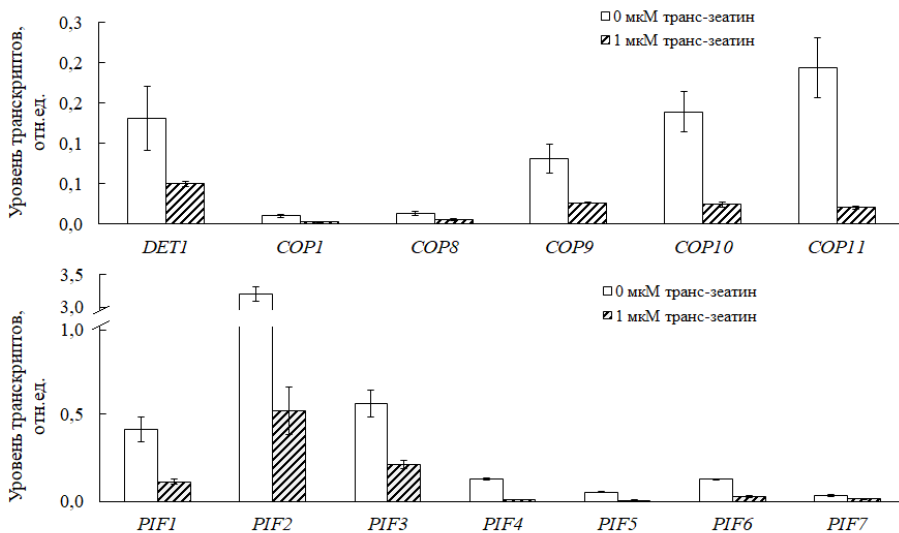


Рисунок 13. ЦК-зависимая регуляция экспрессии генов негативных регуляторов фотоморфогенеза *COP/DET/FUS* и *PIFs* в 4-дневных этиолированных проростках дикого типа *A. thaliana*.

приводит к формированию проростка с укороченным гипокотилем, раскрытыми семядолями и отсутствием апикального крючка (Chory et al., 1994). Подобный фенотип имеют нокаут-мутанты *A. thaliana* по генам *COP/DET/FUS* (*det1*, *cop1*, *cop8*, *cop13*, *cop12*, *cop15*) (Kwok et al., 1996). Таким образом, можно предположить, что в условиях темноты ЦК инактивирует компоненты негативной регуляции фотоморфогенеза. При освещении таких растений, системы рецепции и трансдукции светового сигнала значительно быстрее инактивирует оставшиеся негативные регуляторы, тем самым ускоряют деэтиоляцию.

**Фитохромы А и/или В участвуют в ЦК-зависимом прорастании семян *A. thaliana*.** Примечательным результатом данного исследования является выявление более яркого эффекта ЦК у нокаут-мутанта по генам *PHYA* и/или *PHYB* как в ходе деэтиоляции, так и при этиолированном развитии. Можно предположить, что в условиях темноты рецепторы красного света подавляют ЦК-зависимые реакции. Логично предположить, что увеличение концентрации ЦК в питательной среде может приводить к более яркой реакции нокаут-мутанта *phyAphyB* на ЦК в ходе темного развития и последующей деэтиоляции.

Для проверки данного предположения семена дикого типа и нокаут-мутантов *phyAphyB*, *cry1cry2* и *hy5* высевали в чашки Петри на питательную среду Мурасиге-Скуга с содержанием *транс*-зеатина 0, 1, 5 и 10 мкМ. По истечении 4 дней в условиях темноты наблюдали проростки дикого типа и нокаут-мутантов *cry1cry2* и *hy5* как на питательной среде с ЦК (1, 5 и 10 мкМ *транс*-зеатин), так и без *транс*-зеатина (0 мкМ *транс*-зеатин). Однако инактивация фитохромов А и/или В приводила к снижению прорастания семян *phyAphyB*. Спустя 4 дня в условиях темноты на питательной среде с концентрацией 5 мкМ *транс*-зеатина семена *phyAphyB* формировали значительно меньше проростков, а добавление 10 мкМ ЦК в питательную среду приводило к подавлению прорастания.

Учитывая наиболее яркую реакцию на ЦК у нокаут-мутанта *phyAphyB* можно

предположить, что отсутствие рецепторов *phyA* и/или *phyB* приводит к бóльшему подавлению негативных регуляторов цитокинином, что в конечном итоге приводит к ингибирующему эффекту гормона. Несмотря на то, что процесс прорастания не является целью данного исследования, такое наблюдение подтверждает более тесную связь взаимодействий сигналов цитокинина и красного света.

Кроме того, данное наблюдение указывает на то, что рецепторы света необходимы для надлежащего прорастания и, вероятно, дальнейшего развития в условиях темноты. Можно предположить, что отсутствие рецепторов фитохромов А и/или В оказывает влияние на предшествующих этапах онтогенеза, что приводит к формированию качественно других семян.

**Рецепторы света *phyA* и/или *phyB*, *CRY1* и/или *CRY2* опосредуют формирование этиопластов у *A. thaliana* в условиях темноты.** Изменение ЦК-зависимого прорастания нокаут-мутанта *phyAphyB* указывают на то, что рецепторы света оказывают влияние на развитие проростков в условиях темноты.

Логично считать, что инактивация системы рецепции светового сигнала не должна оказывать влияние на развитие этиолированных растений. Тем не менее, отсутствие рецепторов светового сигнала приводит к изменению ультраструктуры этиопластов в условиях темноты (Рис. 10). Проростки нокаут-мутанта *phyAphyB* формируют этиопласты бóльшего размера, которые содержат увеличенное относительно площади органеллы ПЛТ. В свою очередь, нокаут-мутации по генам рецепторов синего света *CRY1* и/или *CRY2* приводят к увеличению площади этиопластов и ПЛТ в равной степени (Рис. 10).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Свет является первостепенным фактором, инициирующий формирование хлоропластов. Среди рецепторов света, опосредующих деэтиоляцию у *A. thaliana*, наибольшую роль играют фитохромы *phyA* и *phyB* и криптохромы *CRY1* и *CRY2*. Среди эндогенных регуляторов биогенеза фотосинтетически активных пластид особое место занимают ЦК. В многочисленных экспериментах показано однонаправленное действие ЦК и света, однако молекулярный механизм стимулирующего действия гормона на биогенез хлоропластов изучен недостаточно.

В данной работе впервые показан неравнозначный вклад рецепторов красного света фитохромов А и/или В, рецепторов синего света криптохромов 1 и/или 2, а также *транс*-фактора *HY5* в светозависимое формирование хлоропластов. Фитохромы А и/или В вносят наибольший вклад в светозависимую регуляцию биосинтеза хлорофилла, экспрессию генов хлоропластных белков, а также участвуют в контроле увеличения хлоропластов. Криптохромы 1 и/или 2 в меньшей степени опосредуют процесс деэтиоляции. *Транс*-фактор *HY5* также принимает участие в контроле

биосинтеза хлорофиллов и экспрессии генов хлоропластных белков, однако большее влияние оказывает на формирование ультраструктуры хлоропластов в ходе деэтиоляции.

Компоненты сингалинга света также опосредуют эффект ЦК на начальном этапе фотоморфогенеза. Наибольшая регуляция ЦК выявлена при инактивации генов фитохромов А и/или В, минимальный эффект ЦК оказывает на мутанты с инактивированными генами криптохромов 1 и/или 2. *Транс*-фактор HY5 занимает в этом отношении среднее положение.

Исследования, выполненные в данной работе, показали, что рецепторы и трансдуктор светового сигнала, по-видимому, принимают участие и/или оказывают косвенное влияние на ЦК-зависимую регуляцию экспрессии генов хлоропластных белков в условиях темноты. Обнаруженный более значимый эффект ЦК на нокаут-мутантах по рецепции *phyAphyB* и *cry1cry2* и слабый ЦК-зависимый ответ у *hy5* наводит на мысль о том, что регуляция ЦК осуществляется либо через транскрипционные факторы фотоморфогенеза, такие как HY5, либо через компоненты светового сигнала, расположенные в цепи трансдукции между рецепторами света и *транс*-фактором HY5, например, негативные регуляторы фотоморфогенеза COP/DET/FUS и PIFs. Действительно, *транс*-зеатин подавляет экспрессию генов негативных регуляторов фотоморфогенеза в условиях темноты в проростках дикого типа *A. thaliana*. Таким образом, мы можем предположить, что ЦК-зависимое подавление негативных регуляторов фотоморфогенеза приводит к снижению деградации транскрипционных факторов фотоморфогенеза, которые, в свою очередь, активируют экспрессию генов хлоропластных белков в условиях темноты. Значительное снижение ЦК-зависимой регуляции уровня транскриптов генов хлоропластных белков у нокаут-мутанта по *транс*-фактору HY5 подтверждает наше предположение.

Помимо выявления неравнозначного вклада рецепторов и трансдуктора светового сигнала в реализацию позитивного эффекта ЦК в ходе деэтиоляции, в данном исследовании обнаружено, что рецепторы света фитохромы А и/или В участвуют в ЦК-зависимом прорастании в условиях темноты, и далее, формировании этиопластов. Вероятнее всего, отсутствие рецепторов фитохромов А и/или В приводит к формированию качественно других семян. Также можно предположить, что рецепторы света могут непосредственно участвовать в развитии проростка в условиях темноты, однако данное предположение требует дальнейших исследований.

## ВЫВОДЫ

1. Рецепторы света фитохромы А и/или В, криптохромы 1 и/или 2 и *транс*-фактор HY5 вносят неодинаковый вклад в процесс деэтиоляции проростков *A. thaliana* на белом свете. По силе своего воздействия на молекулярные, биохимические и морфологические изменения проростков и пластид участники светового сигналинга можно условно расположить по мере убывания их влияния в следующем порядке: фитохромы А и/или В, *транс*-фактор HY5, криптохромы 1 и/или 2.

2. Фитохромы А и/или В, криптохромы 1 и/или 2 и *транс*-фактор HY5 принимают участие в ЦК-зависимой регуляции деэтиоляции, оказывая влияние на накопление хлорофиллов, экспрессию генов пластидных белков и развитие ультраструктуры пластид. Наибольший эффект ЦК, превышающий эффект гормона на растения дикого типа, обнаруживается при инактивации генов фитохромов А и/или В, меньший эффект оказывает ЦК на мутанты *cry1cry2* и *hy5*.

3. Рецепторы света фитохромы А и/или В и криптохромы 1 и/или 2, вероятно, важны для надлежащего развития пластид в темноте. Это может быть связано с формированием качественно иных семян при отсутствии данных рецепторов света и/или с метаболическими нарушениями в ходе развития проростков при этиоляции.

4. Цитокинины подавляют экспрессию генов негативных регуляторов (*COPs*, *DET1* и *PIFs*) в ходе этиолированного развития, тем самым могут ускорять деэтиоляцию.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### В журналах, рекомендованных ВАК:

1. Дорошенко А.С., Данилова М.Н., Кудрякова Н.В., Соловьев А.А., Кузнецов В.В. (2016) Мембранные рецепторы цитокинина участвуют в регуляции экспрессии пластидного генома в процессе темного развития растений. Доклады Академии наук, 469(5), 631-634.

2. Данилова М. Н., Дорошенко А. С., Кудрякова Н. В., Андреева А. А., Кузнецов В. В. (2018) Аппарат транскрипции пластома и особенности экспрессии его генов в процессе цитокинин-зависимой деэтиоляции *Arabidopsis thaliana*. Физиология растений, 65(6), 438-450.

3. Дорошенко А. С., Данилова М.Н., Медведева А. С., Кузнецов В. В. (2019) Участие компонентов сигналинга синего света в регуляции цитокинин-зависимого зеленения проростков *Arabidopsis thaliana*. Физиология растений, 66(6), 403-411.

4. Дорошенко А.С., Данилова М.Н., Андреева А.А., Кудрякова Н.В., Кузнецов В.В., Кузнецов В.В. (2020) Транс-фактор HY5 участвует в цитокинин-



зависимой регуляции экспрессии генов белков, ассоциированных с пластидной РНК-полимеразой бактериального типа при деэтиоляции *Arabidopsis thaliana*. Доклады Российской академии наук. Науки о жизни, 492, 280-286.

5. Кузнецов В.В., Дорошенко А.С., Кудрякова Н.В., Данилова М.Н. (2020) Роль фитогормонов и света в процессе деэтиоляции. Физиология растений, 67(6), 563-577.

6. Дорошенко А.С., Малюкова А.М., Данилова М.Н., Кузнецов Вл.В., Кузнецов В.В. (2022) Транскрипционные факторы семейства GLKs участвуют в цитокинин-зависимой регуляции экспрессии гена пластидной РНК-полимеразы SCA3 в ходе деэтиоляции *Arabidopsis thaliana*. Доклады Российской академии наук. Науки о жизни, 506, 354-360.

### **В прочих изданиях**

1. Дорошенко А.С., Данилова М.Н. (2018) Участие компонентов сигналинга синего света в регуляции экспрессии генов аппарата транскрипции пластома при цитокинин-зависимой деэтиоляции *A. thaliana* // Сборник материалов Годичного собрания Общества физиологов растений России, Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых (Иркутск, 10-15 июля 2018 г.) – Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018. – В 2-х частях. Часть I. – с.908-911. DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-908-912

2. Дорошенко А.С., Данилова М.Н. (2019) Криптохромы и транс-фактор HY5 регулируют биосинтез хлорофилла в ходе цитокинин- зависимого зеленения *A. thaliana*. Сборник материалов IX Съезда общества физиологов растений России «Физиология растений – основа создания растений будущего». Стр. 155. Казань, 19-21 сентября 2019 г. DOI: 10.26907/978-5-00130-204-9-2019-155

3. Кузнецов В.В., Дорошенко А.С., Кудрякова Н.В. (2020) Деэтиоляция: что это такое? Биология в школе, 6, 3-12.