

# Клеточный цикл и эпигенетические изменения ДНК у растений

Г. В. Шевченко

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

galina-shevchenko@yandex.ru

*Для минимизации влияния внешней среды растения используют несколько стратегий. Одна из них – наследуемые модификации генной экспрессии, осуществляемые без изменения последовательности нуклеотидов ДНК (эпигенетика). Сигнальный путь Rb-E2F/DP (ретинобластома (Rb)–транскрипционные факторы E2F/DP) связывает клеточный цикл и факторы модификации ДНК и хроматина, а также координирует клеточную пролиферацию и дифференциацию в зависимости от внешних воздействий. В обзоре систематизированы данные об активности сигнального пути Rb-E2F/DP и его связи с эпигенетическими изменениями ДНК у растений.*

*Ключевые слова: ДНК, транскрипционный фактор E2F, хроматин-ремодулирующие комплексы, эпигенетика.*

Деление и дифференциация клеток, функционирование меристем и всеобщее развитие растений зависят от координированной активности генов клеточного цикла. Из-за постоянного воздействия внешней среды регуляция клеточной пролиферации и дифференциации у растений, а также связь между контролем клеточных делений и развитием растительного организма приобретают пластичность, что дает возможность приспосабливаться и выживать в разнообразных условиях. Регуляция клеточного цикла состоит из множественных пунктов контроля ДНК и ее эпигенетических изменений. При любом нарушении структуры ДНК происходит задержка клеточного цикла, необходимая для ее репарации, и формируются механизмы защиты ДНК от возможных повреждений [1].

На стадии репликации ДНК наиболее уязвима, поэтому один из основных этапов контроля проис-

ходит при переходе из G<sub>1</sub>- в S-фазу. У млекопитающих переход G<sub>1</sub>-S зависит, в основном, от активности транскрипционных факторов E2F/DP и репрессорного белка ретинобластомы (Rb) [2]. С середины G<sub>1</sub>-фазы активный комплекс, образуемый циклинами D (количество и активность которых зависят от внешних сигналов [3]), и циклин D-зависимыми протеинкиназами, фосфорилирует Rb (рис. 1). Rb находится в связанном с транскрипционными факторами E2F/DP состоянии и репрессирует их активность. Фосфорилированный Rb теряет сродство с E2F/DP, в результате чего последние освобождаются и активируют транскрипцию так называемых E2F-регулируемых генов, промоторы которых имеют сайты связывания с E2F. E2F-регулируемые гены обеспечивают прогресс клеточного цикла и синтез ДНК, ее репликацию и восстановление, необратимо направляя клетку в S-фазу.

Важность сигнального пути Rb-E2F/DP доказывают исследования, обнаруживающие почти во всех опухолях млекопитающих потерю контроля регуляции Rb и E2F/DP [4–6]. Установлено, что Rb-E2F/DP-путь у растений консервативен, гомологи белков Rb, E2F и DP по структуре и биохимическим свойствам сходны с таковыми у животных [7–9], а их экспрессия ограничена областью меристем (*Arabidopsis thaliana*) и осуществляется в ранней S-фазе [5].

Скрининг геномов растений показал, что двудольные виды содержат единичный ген *Rb*, а однодольные – два гена *Rb* [10]. У *Arabidopsis* обнаружен один гомолог животного Rb [11]. Множественные гомологи Rb выявлены у кукурузы и табака [12].

В покоящихся клетках или во время ранней G<sub>1</sub>-фазы транскрипционные факторы E2F вовлечены, в основном, в репрессию ряда генов, регулируемых в клеточном цикле, а при переходе из G<sub>1</sub>- в S-фазу (в результате освобождения транскрипционно активных E2F-факторов) происходит E2F-зависимая активация нескольких генов, кодирующих регуляторные белки и ферменты синтеза нуклеотидов и ДНК. Считается, что у растений гены, регулируемые транскрипционными факторами E2F, влияют на постэмбриональное развитие и контролируют переход клеток либо к делению, либо к дифференциации. Такая двойная роль E2F объясняет, почему эти транскрипционные факторы могут быть либо позитивными, либо негативными регуляторами клеточной пролиферации в зависимости от типа клеток и стадии развития [13].

Интересным является тот факт, что сигнальный путь Rb-E2F/DP взаимодействует с модифицирующими структуру хроматина факторами (деацетилазы и метилтрансферазы гистонов, SWI-SNF-комплекс), которые способны активно репрессировать транскрипцию E2F-регулируемых генов, блокируя доступ других транскрипционных факторов в область, близкую к сайтам связывания с E2F [13]. Тем самым обеспечивается связь Rb-E2F/DP-сигнального пути с эпигенетическими изменениями ДНК [14]. У растений (в отличие от животных) изменения активности какого-либо из элементов сигнального пути Rb-E2F/DP не ведут к летальным послед-

ствиям, что делает их удобной моделью для изучения регуляции такого пути.

Исследуя активность пути Rb-E2F/DP и его взаимосвязь с факторами модификации ДНК и хроматина, можно установить механизм координации клеточной пролиферации и дифференциации в зависимости от внешних воздействий. Целью обзора является систематизация данных об активности генов Rb-E2F/DP и их связи с эпигенетической регуляцией у растений.

**Семейство транскрипционных факторов E2F/DP.** Первоначально E2F идентифицировали как клеточный фактор, активирующий промотор аденовируса E2 [15], откуда и произошло его название. Впоследствии обнаружилось, что он регулирует множество разнообразных генов, включая гены клеточного цикла и регуляторные гены (циклины, Rb), гены репликации и репарации ДНК (*ДНК-полимеразы*, *CDC6*, *ORC1*) и гены, кодирующие структурные белки хроматина (гистоны) [16].

Геном *Arabidopsis* содержит восемь генов белков, структурно родственных E2F-семейству: AtE2Fa (гомолог животного E2F3), AtE2Fb (E2F1), AtE2Fc (E2F2), два DP белка (*distant-related proteins*, AtDPa, AtDPb) и три DEL (DP- and E2F-like, AtDEL1, AtDEL2, AtDEL3 или AtE2F1-3) (база данных ncbi, <http://www.ncbi.org>).

Белки E2F и DP обнаружены также у пшеницы, табака, моркови и риса [13, 14, 17]. AtDEL1–AtDEL3 локализованы в ядре, AtDPa и AtDPb выявлены как в цитоплазме, так и в ядре, а AtE2Fa–AtE2Fc могут находиться в цитоплазме и/или ядре в зависимости от типа клеток [18].

Для транскрипционных факторов E2F характерно наличие консервативного домена, связывающего ДНК, а также домена димеризации и домена активации транскрипции, в который входит сайт связывания с белком Rb (рис. 1).

У растений, как и у животных, белки E2F и DP функционируют в виде гетеродимерного комплекса, что обеспечивает специфичность связывания с ДНК. Так, у *Arabidopsis* E2Fa (AtE2F3) и AtE2Fb (AtE2F1) являются активаторами транскрипции только при взаимодействии с DPa, в то время как AtE2Fc (AtE2F2) не трансктивируется даже в комплексе с другими DP-белками [18, 19]. E2Fa–E2Fc

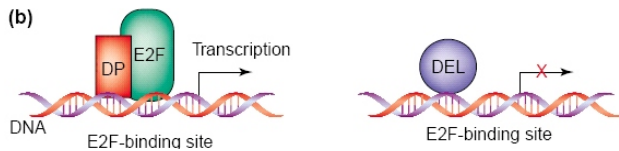
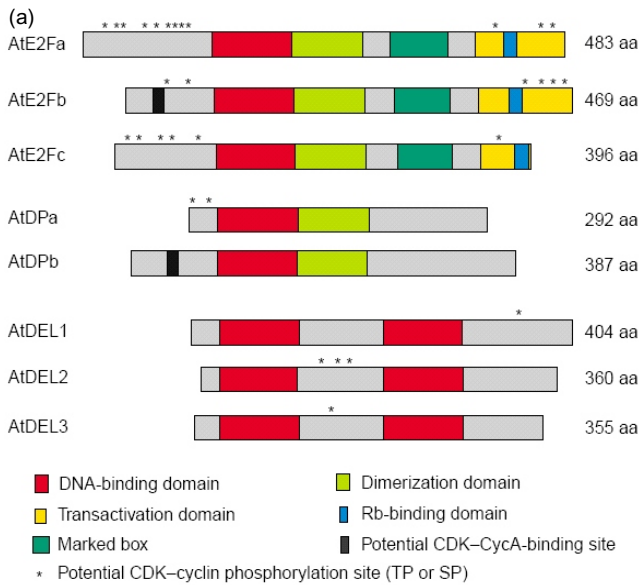


Рис. 1. Доменная структура белков E2F/DP [14] (Copyright 2002 с разрешения Elsevier)

имеют структуру, сходную с белками животных, со специфическим доменом узнавания ДНК, доменом гетеродимеризации DP, доменом связывания с Rb и доменом трансактивации. И наоборот, E2Fd–E2Ff, гомологи E2F7 и E2F8 животных, не содержат домена гетеродимеризации DP и домена связывания с Rb. Вместо этого у них имеется дубликат домена связывания с ДНК, что дает возможность взаимодействовать с ДНК без димеризации с DP-белком [20, 21]. Домены связывания с ДНК у генов *E2F* и *DP* включают специфический мотив узнавания ДНК RRxYD (x – любой нуклеотид).

Поскольку сайт связывания с Rb перекрывается с доменом активации E2F, комплекс Rb-E2F/DP работает как репрессор транскрипции.

Не так давно обнаружен новый класс регуляторных белков DEL (DP- and E2F-like). В геноме *Arabidopsis* они представлены белками AtDEL1, AtDEL2, AtDEL3 или AtE2F1-3. В эту группу входят белки с уникальными характеристиками, отсутствующими у белков животных [14]. DEL-белки содержат два E2F-подобных сайта связывания (как с E2F, так и с DP), каждый из которых включает

RRxYD-мотив, но домена активации у них нет. Поэтому мономерный белок DEL действует как конкурент E2F/DP-белкам, связываясь с одними и теми же *cis*-действующими элементами промотора. Поскольку DEL лишены домена активации, они функционируют как репрессоры E2F/DP-регулируемых генов [13]. Этот путь дает возможность избежать перехода G<sub>1</sub>-S в условиях, неблагоприятных для начала репликации ДНК (повреждение ДНК или стресс) [11].

Уровень транскрипции растительных генов семейства E2F в общем невысок. В основном они экспрессируются в органах с активно пролиферирующими тканями (меристемы) [5]. Экспрессия некоторых генов *DP* существенно увеличивается при вхождении клеток в S-фазу, а члены *DEL*-семейства, наоборот, экспрессируются при этом слабо [13].

Сверхэкспрессия *E2F* у животных вызывает переход в S-фазу и развитие апоптоза [22]. У *Arabidopsis* сверхэкспрессия *E2Fa/DPa* приводит к продолжительному синтезу ДНК без делений (эндоредупликация), эктопическому клеточному делению и приостановке роста на ранних стадиях [5]. Однако при этом апоптоз не развивается. Усиление эндоредупликации может быть вызвано комбинацией повышенной активности E2Fa/DPa и ограничением экспрессии митотических генов. Анализ сверхэкспрессии *AtE2Fc* и *DPa* у табака выявил, что активность E2F является причиной начала S-фазы и продолжительного клеточного цикла или его остановки, при этом модулируется рост ткани и органа в присутствии либо в отсутствие других факторов, ассоциированных с клеточным циклом (митотические факторы) [9]. Однако четкой корреляции между локализацией белков семейства E2F и фазами клеточного цикла не выявлено [14].

Сверхэкспрессия *E2Fa* приводит к появлению большего количества клеток у растений из-за экстрапостэмбриональных клеточных делений. Так, в корнях *Arabidopsis* со сверхэкспрессией *E2Fa* и *DPa* корневой чехлик содержит большее количество клеток, чем в контроле, но они существенно меньше по размерам. Избыток клеток у E2Fa-растений может быть результатом укорочения клеточного цикла или удлинения фазы пролиферации клеток [5]. Считается, что E2Fa/DPa ингибирует растя-

жение клеток, поскольку у трансгенных растений с выраженными эктопическими делениями клеток размеры листовых пластинок не увеличиваются, а скорее уменьшаются.

У дважды трансформированных растений *Arabidopsis* генами, кодирующими как E2Fa, так и DPa, замедляется рост и происходит закручивание листьев [5] вследствие усиленной пролиферации атаксиальных клеток мезофилла на внешней стороне и репрессирования клеточного деления на абаксиальной стороне [9].

Сравнительным анализом последовательностей нуклеотидов установлено, что *Arabidopsis* имеет более 30 генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла, репликацию и репарацию ДНК и содержащих в своих промоторах один или два E2F-связывающих сайта [14, 18].

Показано, что E2F-связывающие сайты важны для тканеспецифической и регулируемой в клеточном цикле экспрессии некоторых генов растений, ответственных за репликацию ДНК [23, 24]. Промоторы генов рибонуклеотидредуктазы (*RNR*) и *MCM3* у *Nicotiana tabacum*, *Orisa sativa* и *A. thaliana* содержат сайты связывания с комплексами E2F/DP растений и регулируют S-фазу и тканеспецифическую экспрессию в меристеме [18, 23]. Обнаружено, что два E2F-связывающих сайта в промоторе *RNR2* табака могут функционировать как активаторы экспрессии генов при переходе G<sub>1</sub>-S, в то время как другие E2F-связывающие сайты выполняют роль скорее репрессоров экспрессии в фазе G<sub>1</sub>. Аналогично, один из E2F-связывающих сайтов в промоторе *MCM3* у *Arabidopsis* подавляет экспрессию в G<sub>2</sub>. В связи с этим предполагается, что E2F-связывающие сайты могут регулировать переход G<sub>1</sub>-S как негативно, так и позитивно [23].

В целом же повышенная активность E2F/DP запускает пролиферацию клеток и эндоредупликацию клеточноспецифически и возможно, что морфологические изменения в определенных тканях и органах трансгенных растений вызваны именно клеточноспецифическим действием E2F/DP. Следует отметить, что баланс между делением и дифференциацией играет существенную роль в развитии растений. Рост растений может приостанавливаться из-за задержки дифференциации или в резу-

льтате нарушения взаимодействия клеток в различных тканях. В связи с этим важно установить, каким образом транскрипционные факторы E2F/DP контролируют переход G<sub>1</sub>-S и как при этом осуществляется развитие растений.

**Связь сигнального пути Rb-E2F/DP с эпигенетическими изменениями ДНК.** Дифференциация клеток контролируется как активацией, так и «молчанием» определенных генов. Специфический тип генной экспрессии должен быть стабильным во многих поколениях клеток и оставаться таковым надолго после исчезновения индуцирующего сигнала. Генетическими и биохимическими исследованиями дрожжей, плодовой мушки, млекопитающих и растений показано, что изменения генной экспрессии могут сопровождаться перестройками структуры хроматина в промоторах генов и других регуляторных участках ДНК [25, 26]. В ядре ДНК закручена вокруг октамеров, состоящих из гистонов H2A, H2B, H3 и H4. Такие образования – нуклеосомы – являются основными структурными единицами хроматина, а регуляция его организации (эу-, гетерохроматин) представляет собой один из механизмов контроля транскрипции. Упаковка ДНК в нуклеосомы и структуры высшего порядка препятствует доступу белков, связывающихся с ДНК- и РНК-полимеразами, репрессируя таким образом генетическую информацию (гетерохроматин). При этом N-конец гистонов нуклеосом подвергается посттрансляционным модификациям, таким как ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, убиквитинизация, гликозилирование, АДФ-рибозилирование и т. д. Такие модификации совместно с метилированием ДНК способствуют переходу компактизации нуклеосом в «закрытую» (репрессирование транскрипции) либо «открытую» конфигурацию (активация транскрипции), что опосредует прохождение сигналов клеточного ответа. Передача специфического транскрипционного состояния дочерним клеткам через митоз или мейоз ведет к стабильному наследованию структур хроматина.

Известно, что комплекс Rb-E2F/DP способен активно репрессировать транскрипцию генов благодаря взаимодействию с различными факторами модификаций хроматина. В зависимости от типа

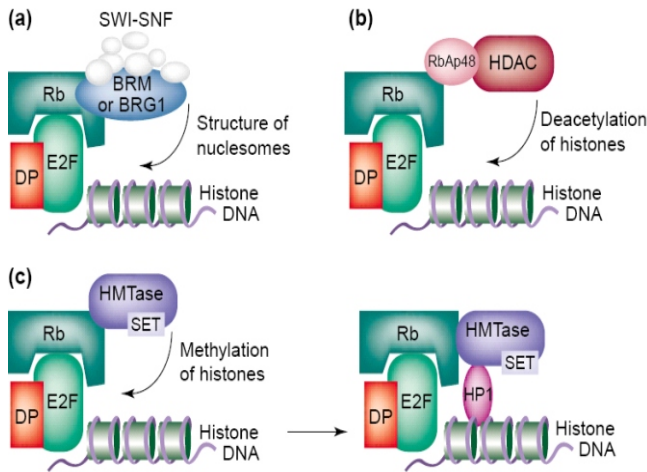


Рис. 2. Связь Rb-E2F/DP сигнального пути с: *a* – SWI-SNF-комплексом; *b* – деацетилазами гистонов (HDAC); *c* – метилтрансферазами гистонов [14] (Copyright 2002 с разрешения Elsevier)

функционирования выделяют две основные группы хроматин-ремодулирующих комплексов: 1) АТФ-зависимые комплексы используют энергию АТФ для локального разрушения или изменения ассоциации гистонов с ДНК за счет передвижения октамеров гистонов на новые позиции или их временного удаления из ДНК [27–29]; 2) комплексы, включающие ацетилтрансферазы гистонов (HAT) и деацетилазы гистонов (HDAC), регулируют транскрипционную активность генов, определяя уровень ацетилирования N-концевых доменов гистонов нуклеосом [14].

**Активность SWI-SNF-комплекса.** Наиболее изученным хроматин-ремодулирующим фактором первого типа является комплекс SWI-SNF (рис. 2, *a*). Современная классификация АТФ-зависимых комплексов основывается на типе АТФазы, действующей как центральная каталитическая единица. Минимальную сердцевинную часть комплекса SWI-SNF у дрожжей, *Drosophila* и человека составляет одна АТФаза (hBRM или BRG1 у человека и SWI2/SNF или Sth1 у дрожжей), два zipper-содержащих белка SANT/SWIRM/Leu, называемых SWI3 (BAF155/BAF170 у человека и SWI3/RSC8 у дрожжей), и одного белка SNF (hSNF5/INI1 у человека и SNF5/SNF1 у дрожжей) [30]. SNF2 является первой описанной АТФазой комплекса SWI-SNF у дрожжей. Помимо АТФазного домена SNF2-подобные белки содержат очень разные N- и С-конце-

вые домены для взаимодействия с другими белками этого комплекса или специфическими, ассоциированными с хроматином белками. По типу этих доменов SNF2-белки разделяют на несколько подсемейств: SWI2/SNF2, ISWI и CHD или (LSH)/DDM1 (lymphoid-specific helicase) [25]. Хроматин-ремодулирующие комплексы не обладают способностью связываться с ДНК непосредственно, они соединяются с участками промоторов генов через транскрипционные факторы. Большинство эукариотов содержит множественные SWI-SNF АТФазы. Так, у *Arabidopsis* выявлены четыре члена этого семейства, у риса – три, у тополя – шесть (номенклатура базы данных Chromo, <http://www.chromdb.org> [29, 31]). Установлено, что геном *Arabidopsis*, а также риса и тополя содержат единственный ген *BSH*, подобный *SNF5* у дрожжей (<http://www.chromdb.org>), и кодируют несколько белков, подобных SWI2, а именно: четыре гомолога SWI3 – SWI3A, SWI3B, SWI3C, SWI3D (<http://www.chromdb.org/> [29]).

У растений группа SWI3-белков более вариабельна, чем у животных. В частности, *SWI3B* экспрессируется во всем растении, локализован в ядре, ассоциирован с хроматином [32]. Наличие у указанной группы белков консервативного Rb-связывающего мотива CxLxE предполагает, что SWI-SNF-комплекс участвует в регулируемой Rb-E2F/DP экспрессии генов. Несколько гомологов SWI2 у *Arabidopsis* высокоомологичны аналогам BRM и BRG1-SWI2 человека [33]. Взаимодействие Rb с BRM и BRG1 во время ранней S-фазы репрессирует гены циклин-зависимой протеинкиназы *CDK1* и циклина *CyCA*, продукты которых необходимы для перехода G<sub>2</sub>-M [34]. Не исключено, что такую же роль выполняют и их растительные гомологи.

Белковые взаимодействия в пределах SWI-SNF-комплекса изучены неполностью. У животных мутации генов белков комплекса SWI-SNF приводят к развитию опухолей, что доказывает его роль в подавлении онкогенеза [35].

Существуют данные о взаимодействии сердцевинных субъединиц с несердцевинными белками, включая циклины, SNF11 и белки с так называемым SET-доменом (см. ниже). Такие белки, вовлеченные в опосредование различных функций SWI-SNF-комплекса, могут временно ассоциироваться с

ним или представлять его ткане- или органоспецифические дополнительные субъединицы.

Одними из таких белков SWI-SNF-комплекса являются два актин-связывающих белка *Arp7* и *Arp9* [36], обуславливающих нуклеацию микрофиламентов. Предполагается, что эти белки способствуют взаимодействию комплексов, ремодулирующих хроматин, с другими актин-связывающими белками либо с ядерными белками, к примеру, с компонентами ядерного матрикса или даже с самим хроматином [37]. Также не исключено, что, поскольку одна из функций актина состоит в обеспечении роста клеток, взаимодействие *Arp7* и *Arp9* с хроматин-ремодулирующими комплексами, регулируемые *Rb-E2F/DP*-сигнальным путем, доказывает влияние *Rb-E2F/DP* на ростовые процессы в клетках.

Сравнительное изучение последовательностей аминокислот и филогенетический анализ более чем 40 возможных SNF2-подобных белков, идентифицированных у *Arabidopsis*, выявили наличие четырех белков, близкородственных с *Brahma*-комплексом плодовой мушки [33]. Среди этих белков наиболее изучены *SPLAYED* (*SYD*) и *БРАХМА* (*BRM*), контролирующие временное регулирование фаз развития растения. *SYD* отвечает за переход между вегетативным и генеративным развитием и необходим для нормального развития плодolistика и семян. У мутантов *syd* обнаружены множественные плеiotропные дефекты, что доказывает регуляцию отдельными членами SWI-SNF-семейства широкого спектра транскрипционных событий [38]. *SYD* также контролирует спецификацию клеток в апикальной меристеме стебля [39].

*БРАХМА* отвечает за размер растений и время цветения через репрессию генов фотопериодизма. В результате молекулярного и морфологического анализа сделано предположение, что *syd*- и *brm*-мутанты обнаруживают как подобные, так и различные дефекты. *AtBRM* контролирует развитие стебля и процесс цветения [40]. Оба мутанта по этим генам растут медленно, демонстрируют карликовость и сниженную активность апикального доминирования в стебле [38], а также раннее цветение [25]. Подобные фенотипы описаны и для мутантов других компонентов комплекса SWI-SNF.

**Деацетилирование гистонов.** Как у растений, так и у животных *Rb*-белок связывается с деацетилазами гистонов через ассоциированный с *Rb* растительный гомолог животного белка *RbAp48* [41] (рис. 2, *b*).

Деацетилазы гистонов – это ферменты, влияющие на транскрипцию, избирательно деацетилируя -аминогруппу лизина, расположенного в N-концевых доменах гистонов. У растений лизин 5, 8, 12, 16, 20 в *H4* и 9, 14, 18, 23 в *H3* ацетируется *HAT* и деацетируется *HDAC* [42]. Взаимодействие между *HAT* и *HDAC* сказывается на динамическом равновесии между ацетилированием и деацетилированием гистонов в промоторах и регуляторных участках генов, влияющих на структуру хроматина и транскрипцию. Ацетилирование гистонов способствует репарации и рекомбинации ДНК. Деацетилирование хроматина коррелирует с его конденсированным состоянием и «молчанием» генов. У человека нарушение функционирования *HDAC* наблюдается при многих формах онкологических заболеваний. *HDAC* связывается со специфическими локусами хромосом и непосредственно или с помощью дополнительных факторов соединяется с ДНК-связывающими белками, регулирующими развитие. Показано, что у млекопитающих комплексы *HDAC-Rb-E2F* необходимы для деацетилирования нуклеосом, расположенных в пределах промотора гена циклина *E* (*CycE*), что сказывается на его репрессии в ранней *G<sub>1</sub>*-фазе [10].

Интересным является тот факт, что экспрессия генов деацетилаз зависит от состояния внутриклеточной сети актина. Так, экспериментами на культуре клеток *HeLa* показано, что деполимеризация *F*-актина приводит к появлению множества растворимых форм деацетилаз [43], регулируя таким образом их активность.

У *Arabidopsis* выявлены 18 предполагаемых гомологов *HDAC* и 12 предполагаемых *HAT*, что приблизительно равно количеству этих белков у животных. В основном, предполагаемые *HDAC* консервативны у всех эукариотов. У *Arabidopsis* наиболее изучена деацетилаза *AtHD1* (*HDA19*) (*RPD3* у дрожжей), также обнаружены подобные члены семейства деацетилаз *HDA6–7* и *9*. *AtHD1* как позитивно, так и негативно регулирует экспрес-

сию различных групп генов при развитии цветков и листьев [44]. *HDA19* сильно экспрессируется в листьях, стеблях, цветках и молодых стручках и вовлечен в репрессию транскрипции [44, 45]. В трансгенных растениях *Arabidopsis* с геном *HDA19* в антисмысловой ориентации гистон H4 гиперацетилован, растения обнаруживают патологии развития, включая раннее старение, подавление апикального доминирования, мужскую и женскую стерильность, задержку цветения [46]. *HDA19* является одним из элементов репрессии генов, ответственных за формирование корней в стебле *Arabidopsis* у эмбриогенезе [47].

Другие члены этого семейства генов представлены восемью *RPD3/HD1*-подобными генами, двумя гомологами дрожжевого *SIR2*, обладающего  $NAD^+$ -зависимой активностью HDAC [48], и четырьмя специфическими для растений генами белка HD2 [44] с невыясненными функциями. Возможно, что различные члены этой группы генов отвечают за разные функции. HD2 кукурузы является специфическим, не родственным другим известным HDAC-ферментам [49]. Он локализован в ядрышке, что предполагает его роль в регуляции генов рибосомных РНК. Последовательности четырех продуктов генов у *Arabidopsis* (*HDA4*, *HDA3*, *HDA11* и *HDA13*) обнаруживают большую гомологию с последовательностью белка HD2 у кукурузы [50]. Известно, что *HDA3* причастен к эмбриональному развитию. У трансгенов с *HDA3* в антисмысловой ориентации запаздывает рост стручков, у них много abortированных семян, что свидетельствует об участии *HDA3* в развитии зародыша. Установлено, что *HDA6* играет существенную роль в поддержании метилирования в нуклеотидах CG, однако вносит минимальный вклад в развитие, поскольку мутанты с дефицитом экспрессии гена имеют нормальный фенотип.

**Метилирование гистонов и ДНК.** Другой механизм «молчания» генов гетерохроматина, связанный с сигнальным путем Rb-E2F/DP – это метилирование гистонов и ДНК [51, 52] (рис. 2, с). Ацетилирование специфических остатков лизина на N-конце гистонов H3 или H4 ассоциировано главным образом с активацией транскрипции, в то время как метилирование этих остатков связывают

либо с транскрипционной активностью, либо с ее репрессированием в зависимости от того, какой лизин метилирован, и количества метильных групп. Считают, что маркерами репрессированной структуры хроматина является метилирование H3K9, H3K27 и H4K20 в комбинации с гипоацетилированием гистонов и метилированием ДНК, поскольку оно влияет на формирование гетерохроматина, инактивацию X-хромосомы и «молчание» генов эухроматина. Метилирование H3K4, H3K36 и H3K79 и гиперацетилирование гистона H4 являются маркерами «открытой» структуры хроматина (потенциально транскрипционной).

Более того, монометилирование H3K9, H3K27 и H3K79 связано с активацией транскрипции, а триметилирование этих трех остатков ассоциируют с подавлением генной экспрессии [53, 54]. Сильное метилирование лизина 4 (K4) и слабое метилирование лизина 9 (K9) считаются модификациями гистона H3, типичными для транскрипционно активного эухроматина. Эухроматин-специфическое метилирование H3K4 и H3K36 высококонсервативно среди эукариотов, в то время как маркирование гетерохроматина метилированием H3K9, H3K27 и H4K20 более вариабельно [42].

У растений выявлены два типа распределения метилированного H3K9, зависящие от размера генома. Для растений с малым геномом –  $< 500 \cdot 10^6$  п. н. (включая *Arabidopsis*) – сильное метилирование H3K9 ограничено областью конститутивного гетерохроматина. У растений с большим геномом метилированный H3K9 распределен равномерно. В противоположность этому и независимо от размеров генома метилирование H3K4 усиливается в эухроматине всех видов. Предполагается, что большие геномы с большим количеством рассеянных повторяющихся последовательностей должны держать эти последовательности в неактивном состоянии. Поэтому такие эпигенетические изменения, как метилирование ДНК и H3K9, обнаруживаются и в эухроматине [53].

Белки, способные метилировать остатки лизина в гистонах H3 или H4, содержат общий SET-домен из 130 аминокислотных остатков, названный по трем белкам *Drosophila*, вовлеченным в эпигенетические модификации – Su(var)3–9 (suppressor of va-

riegation 3–9), Enhanser of zeste, Trithorax [55]. SET-доменные белки регулируют активность хроматина и эпигенетическое наследование (рис. 2, с). Некоторые белки SET относят к членам групп Polycomb (PcG) или Trithorax (trxG), репрессирующих или активирующих транскрипцию гомеотических генов в процессе развития растений и животных.

Геном *Arabidopsis* кодируют 32 SET-белка, из которых 30 экспрессируются. Их разделяют на четыре консервативных семейства – E(Z), TRZ, ASH1 и Su(var)3–9 – и небольшое пятое семейство, характерное только для растений [56]. Большое количество генов для SET-белков в геноме *Arabidopsis* указывает на то, что метилирование гистонов служит регуляторным фактором в различных аспектах генной экспрессии, включая контроль генов развития. Наиболее изучено семейство Su(var)3-9 метилтрансфераз гистонов. Два члена семейства Su(var)3-9 (KRYPTONITE (KYP)/SUVH4 и SUVH2) контролируют диметилирование H3K9 гетерохроматина и функционируют *in vivo* как гетерохроматин-специфические H3K9-метилтрансферазы [57]. Причем более активная роль в процессе метилирования лизина 9 и 27 в H3 гетерохроматина принадлежит SUVH2. Мутант *kyp* является репрессором «молчания» генов в локусе *SUPERMAN* у *Arabidopsis*. *Kyp*-мутанты не выявляют морфологических дефектов у дикого типа, на основании чего можно предположить, что KYP напрямую не участвует в контроле развития растения [58]. В этой группе у *Arabidopsis* также представлены девять активных генов *SUVH* (*SUVH1–SUVH9*) и пять *SUVR*-генов [59], при этом *SUVR*-белки являются специфическими SET-доменными белками растений.

Другие SET-белки метилируют K4, K9, K27, K36 у H3 или K20 у H4.

Метилтрансферазы человека SUV39H1 и KYP/SUVH4, специфически метилируя H3K9, создают код для привлечения HP1 (консервативный белок гетерохроматина 1). HP1 и его гомологи являются ключевыми компонентами гетерохроматина у дрожжей, *Neurospora*, *Drosophila*, млекопитающих и растений. Предполагают, что белок HP1 действует как организатор хроматина, участвуя в сборке мультибелковых комплексов, способствующих «молчанию» генов эухроматина и экспрессии опре-

деленных генов гетерохроматина. HP1 содержит так называемый хромодомен и хромотеновой домен. Хромодомен HP1 специфически взаимодействует с H3K9, что объясняет ассоциацию этих белков с гетерохроматином [60].

Последующая олигомеризация HP1 через хромотеновой домен распространяет и поддерживает структуру гетерохроматина, обеспечивая «молчание» генов [25]. Единственный ген, кодирующий белок LHP1 (LIKE HP1), аналог HP1, выявлен у *Arabidopsis* [57]. У *Arabidopsis* LHP1 активен не в гетерохроматине, а преимущественно в участках эухроматина и репрессирует специфические гены развития. Мутации по гену *LHP1* вызывают раннее цветение, уменьшение количества эпидермальных клеток в листьях и другие признаки [61].

Таким образом, LHP1 может быть необходим для «молчания» генов, вовлеченных в переход к цветению и другие процессы развития.

Но не только метилирование H3K9 привлекает HP1, к этому процессу могут быть причастны и другие HP1-взаимодействующие белки, к примеру, ретинобластома [62]. У человека SET-домен-метилтрансфераза Suv39H1 связывается с Rb и специфически метилирует лизин 9 гистона H3, репрессируя активность E2F [63]. Таким образом, репрессия транскрипции E2F-регулируемых генов Suv39H1 опосредуется связыванием белка HP1 с метилированным H3.

Наличие у растений белка LHP1 доказывает присутствие LHP1-HMT-Rb-E2F-комплексов, репрессирующих работу *E2F*-генов [61, 64].

Репрессия транскрипции достигается также непосредственным метилированием ДНК. Известно, что метилирование ДНК происходит в процессе развития в ответ на действие внешних факторов [65]. Повышенный уровень метилирования ДНК обнаружен в растениях из зоны Чернобыля в первые годы после аварии [66], что свидетельствует о важности эпигенетических изменений ДНК в приспособлении к хронической радиации. У животных ДНК метилируется вследствие метилирования цитозина главным образом в симметричных CG-динуклеотидах, в то время как у растений цитозин метилируется не только в CG, но и в CNG (N – любой нуклеотид) и CHH (H = A, C или T) [65, 67]. В гено-



ме *Arabidopsis* присутствуют три класса ДНК-метилтрансфераз.

Считается, что METHYLTRANSFERASE 1 (MET1) (гомолог животной Dnmt1) необходима для поддержания метилированной структуры ДНК. Для растений метилирование CNG катализирует второй класс метилтрансфераз – CHROMOMETHYLASE 3 (CMT3), специфичный для растений. Также CMT осуществляет асимметричное метилирование СНН локус-специфическим образом [42, 67]. Последний из известных на сегодня классов – DOMAIN REARRANGED METHYLTRANSFERASES (Dnm3) – гомологичный животной Dnmt3 [67, 68] и осуществляет метилирование *de novo* остатков цитозина в симметричных и асимметричных мотивах.

У млекопитающих ДНК-метилтрансфераза связывается с комплексом Rb-E2F и репрессирует транскрипцию генов промоторов, имеющих сайты связывания с E2F. В отличие от растений у животных потеря функции любой из метилтрансфераз приводит к летальному исходу.

Предполагается, что различные типы модификаций гистонов и ДНК взаимодействуют друг с другом, и уже существующие модификации гистонов влекут за собой последующие [14]. Анализ мутаций по генам метилтрансфераз гистонов с SET-доменом у *Neurospora* и *Arabidopsis* выявил, что метилированные гистоны служат основами для метилирования ДНК [55]. Так, белок LHP1 и его гомологи связываются с H3K9me<sub>1,2</sub> и привлекают метилтрансферазы ДНК. Мутации *kyp* снижают уровень метилирования H3K9 в определенных локусах *in vivo* и вызывают уменьшение метилирования ДНК в сайтах CNG. Можно предположить, что метилирование H3K9 контролирует CNG-метилирование ДНК.

Но у растений метилирование ДНК не всегда зависит от метилирования гистонов [26]. Это одно из оснований для утверждения о том, что именно метилирование ДНК предшествует метилированию гистонов [69]. Предполагается, что метилирование ДНК в CG-последовательностях способствует метилированию гистонов H3K9 в хромоцентрах. Изменения в уровне метилирования ДНК сопровождаются расслаблением хромоцентров гетерохрома-

тина. В противовес метилированию в CG-сайтах метилирование вне CG не оказывает никакого воздействия на метилирование гистонов, но, в свою очередь, метилирование гистонов регулирует метилирование ДНК в CNG-сайтах. Мутанты по генам H3K9me<sub>2</sub>-специфической метилтрансферазы гистонов KYP/SUVH4 и ДНК-метилтрансферазы CMT3 не содержат метилированных остатков цитозина в CNG-сайтах. Считается, что для привлечения CMT3 необходимо метилирование как H3K9, так и H3K2. Кроме того, активность метилтрансферазы гистонов SUVH2, участвующей в метилировании всех гетерохроматин-специфических меток, зависит от MET1, но не от CMT3 [42].

Открытие у млекопитающих локуса *ddm1*, кодирующего белок, гомологичный ремодулирующей хроматин АТФазе sw12/snf2 дрожжей, свидетельствует о том факте, что изменения на уровне нуклеосом способны влиять на метилирование ДНК и экспрессию генов. Наиболее вероятна гипотеза о том, что ремодулирующая активность DDM1 усиливает доступность ДНК-метилтрансфераз для полуметилированной ДНК в новореплицированном хроматине. Это предположение объясняет сильное воздействие *ddm1* на метилирование ДНК в компактном гетерохроматине по сравнению с участками эухроматина [25].

Таким образом, в настоящее время очевидно, что связь между метилированием гистонов и ДНК является сложным взаимозависимым процессом.

Генетические исследования ряда генов, кодирующих компоненты факторов перестроек хроматина HDAC, HMT и DNMT, показали, что эпигенетические механизмы консервативны и действуют на многих стадиях развития растений, включая пролиферацию эмбриональных и меристематических тканей и клеточную дифференциацию [29].

Ковалентные модификации обратимы. Несмотря на то, что НАТ и HDAC осуществляют обратимое ацетилирование/деацетилирование гистонов, метилирование гистонов стабильно. Предполагают, что обратимое ацетилирование/деацетилирование гистонов координирует восприятие сигналов из внешней среды и таким образом регулирует развитие растений. Внешние сигналы приводятся в действие через связь с транскрипционными актива-

торами, репрессорами и/или молекулами, причастними к передаче сигнала. Такие молекулы притягивают деацетилазы гистонов к промоторам генов, чувствительных к внешним воздействиям и влияющих на развитие, что, в свою очередь, перестраивает хроматин и активирует или репрессирует транскрипцию определенных генов. Поскольку этот процесс обратим, усиленная транскрипция может возвращаться к «нормальной» в отсутствие сигнала [44].

Связь хроматин-модифицирующих факторов с Rb-E2F-сигнальным путем является основанием для предположения о том, что существует эпигенетический контроль над клеточным делением и дифференциацией. Изучение деталей такой взаимосвязи поможет выявить механизм влияния внешней среды на морфогенез растений. Обратимость «молчащего» состояния хроматина представляет значительный интерес для онкобиологии и трансгенных технологий. Кроме того, пространственно-временные различия вегетативных и регенеративных фаз развития растений дают возможность изучать эпигенетическое наследование специфических структур хроматина, приобретенных во время вегетативного развития. Наследование этих изменений и их роль в ходе эволюции растений является предметом дальнейших исследований.

G. V. Shevchenko

Cell cycle and epigenetic changes of plant DNA

#### Summary

*Plants can apply various strategies to minimize environmental impact. One of the strategies is heritable modifications of gene expression which occur without changing original DNA sequence and are known as epigenetic. Signaling pathway Rb-E2F (retinoblastoma (Rb)-transcription factor E2F/DP) connects the cell cycle with factors, modifying structure of chromatin and DNA. It also coordinates cell proliferation and differentiation influenced by external stimuli. The article highlights the activity of Rb-E2F/DP signaling pathway and its connection with the epigenetic changes of DNA in plants.*

*Keywords: DNA, transcription factor E2F, chromatin-modifying complexes, epigenetic.*

G. V. Шевченко

Клітинний цикл і епігенетичні зміни ДНК у рослин

#### Резюме

*Щоб мінімізувати вплив довкілля рослини використовують декілька стратегій. Одна з них – це наслідуюння модифікації*

*генної експресії, які відбуваються без зміни послідовності нуклеотидів ДНК (епігенетика). Сигнальний шлях Rb-E2F/DP (ретинобластома (Rb)–транскрипційні фактори E2F/DP) поєднує клітинний цикл з факторами модифікації ДНК і хроматину та координує проліферацію і диференціацію клітин залежно від зовнішнього впливу. В огляді систематизовано дані щодо активності сигнального шляху Rb-E2F/DP і його зв'язку з епігенетичними змінами ДНК у рослин.*

*Ключові слова: ДНК, транскрипційний фактор E2F, комплекси, що ремодують хроматин, епігенетика.*

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Inze D., de Veylder L. Cell cycle regulation in plant development // Annu. Rev. Genet.–2006.–**40**, N 1.–P. 77–105.
2. Gutierrez C. The retinoblastoma pathway in plant cell cycle and development // Curr. Opin. Plant Biol.–1998.–**1**, N 6.–P. 492–497.
3. Dewitte W., Murray J. The plant cell cycle // Annu. Rev. Plant Biol.–2003.–**54**, N 1.–P. 235–264.
4. Harbour J., Dean, D. The Rb/E2F pathway: expanding roles and emerging paradigms // Genes Develop.–2000a.–**14**, N 19.–P. 2393.
5. De Veylder L., Beeckman T., Beemster G., de Almeida Engler J., Ormenese S., Maes S., Naudts M., van der Schueren E., Jacquard A. Control of proliferation, endoreduplication and differentiation by the *Arabidopsis* E2Fa-Dpa transcription factor // EMBO J.–2002.–**21**, N 6.–P. 1360–1368.
6. Blais A., Dynlacht B. E2F-associated chromatin modifiers and cell cycle control // Curr. Opin. Cell Biol.–2007.–**19**, N 6.–P. 658–662.
7. Sekine M., Ito M., Uemukai K., Maeda Y., Nakagami H., Shimmyo A. Isolation and characterization of the E2F-like gene in plants // FEBS Lett.–1999.–**460**, N 1.–P. 117–122.
8. Albani D., Mariconti L., Ricagno S., Pitto L., Moroni C., Hellen K., Cella R. DcE2F, a functional plant E2F-like transcriptional activator from *D. carota* // J. Biol. Chem.–2000.–**275**, N 25.–P. 19258–19267.
9. Kosugi S., Ohashi Yu. Constitutive E2F expression in tobacco plant exhibits altered cell cycle control and morphological changes in a cell type specific manner // Plant Physiol.–2003.–**132**, N 4.–P. 2012–2022.
10. Sabelli P. A., Dante R. A., Leiva-Neto J. T., Jung R., Gordon-Kamm W. J., Larkins B. A. RBR3, a member of the retinoblastoma-related family from maize is regulated by the RBR1/E2F pathway // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–2005.–**102**, N 37.–P. 13005–13012.
11. Vandepoele K., Raes J., De Veylder L., Rouze P., Rombauts S., Inze D. Genome-wide analysis of core cell cycle genes in *Arabidopsis* // Plant Cell.–2002.–**14**, N 4.–P. 903–916.
12. Oakenfull E., Riou-Khamlichi C., Murray J. Plant D-type cyclins and the control of G1 progression // Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.–2002.–**357**, N 1422.–P. 749–760.
13. Mariconti L., Pellegrini B., Cantoni R., Stevens R., Bergounioux C., Cella R., Albani D. The E2F family of transcription factors from *A. thaliana*: novel and conserved components of plant retinoblastoma/E2F pathway in plants // J. Biol. Chem.–2002.–**277**, N 12.–P. 9911–9919.
14. Shen W. The plant E2F-Rb pathway and epigenetic control // Trends Plant Sci.–2002.–**7**, N 11.–P. 505–511.
15. Kovetski I., Reichel R., Nevins J. R. Identification of a cellular transcription factor involved in E1A transactivation // Cell.–1986.–**45**, N 2.–P. 219–228.
16. Lavia P., Jansen-Durr P. E2F target genes and cell-cycle checkpoint control // BioEssays.–1999.–**21**, N 3.–P. 221–230.

17. De Jager S., Menges M., Bauer U., Murray J. *Arabidopsis* E2F-1 binds a sequence present in the promoter of S-phase-regulated gene AtCDC6 and is a member of a multigene family with differential activities // *Plant Mol. Biol.*—2001.—**47**, N 4.—P. 555–568.
18. Kosugi S., Ohashi Yu. E2F sites that interact with E2F protein cloned from rice are required for meristematic tissue-specific expression of rice and tobacco proliferating cell nuclear antigen promoters // *Plant J.*—2002.—**29**, N 1.—P. 45–59.
19. Del Pozo J., Boniotti M., Gutierrez C. *Arabidopsis* E2F<sub>c</sub> functions in cell division and is degraded by the ubiquitin-SCF (AtSKP2) pathway in response to light // *Plant Cell.*—2002.—**14**, N 12.—P. 3057–3071.
20. Ramirez-Parra E., Lopez-Matas M.A., Frundt C., Gutierrez C. Role of an atypical E2F transcription factor in the control of *Arabidopsis* cell growth and differentiation // *Plant Cell.*—2004.—**16**, N 9.—P. 2350–2363.
21. Sozzani R., Maggio C., Varotto S., Canova S., Bergounioux C., Albani D., Cella R. Interplay between *Arabidopsis* activating factors E2F<sub>b</sub> and E2F<sub>a</sub> in cell cycle progression and development // *Plant Physiol.*—2006.—**140**, N 4.—P. 1355–1366.
22. Shan B., Lee W. Deregulated expression of E2F-1 induces S-phase entry and leads to apoptosis // *Mol. Cell Biol.*—1994.—**14**, N 1.—P. 8166–8173.
23. Chaboute M., Clement B., Sekine M., Philipps G., Chaubet-Gigot N. Cell cycle regulation of the tobacco ribonucleotide reductase small subunit gene is mediated by E2F-like elements // *Plant Cell.*—2000.—**12**, N 10.—P. 1987–2000.
24. Stevens R., Mariconti L., Rossignol P., Perennes C., Cella R., Bergounioux C. Two E2F sites in the *Arabidopsis* MCM3 promoter have different roles in cell cycle activation and meristematic expression // *J. Biol. Chem.*—2002.—**277**, N 30.—P. 32978–32984.
25. Reyes J., Hennig L., Gruissem W. Chromatin-remodeling and memory factors. New regulators of plant development // *Plant Physiol.*—2002.—**130**, N 3.—P. 1090–1101.
26. Martin C., Zhang Yi. Mechanisms of epigenetic inheritance // *Curr. Opin. Cell Biol.*—2007.—**19**, N 3.—P. 266–272.
27. Vignali M., Hassan A., Neely K., Workman J. ATP-dependent chromatin-remodelling complexes // *Mol. Cell. Biol.*—2000.—**20**, N 6.—P. 1899–1910.
28. Saha A., Wittmeyer J., Cairns B. Chromatin remodeling: the industrial revolution of DNA around histones // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*—2006.—**7**, N 6.—P. 437–447.
29. Bezhani S., Winter C., Hershman S., Wagner J., Kennedy J., Kwon Ch., Pfluger J., Su Ya., Wagner D. Unique, shared, and redundant roles for the *Arabidopsis* SWI/SNF chromatin remodeling ATPases BRAHMA and SPLAYED // *Plant Cell.*—2007.—**19**, N 2.—P. 403–416.
30. Mohrmann L., Verrijzer C. Composition and functional specificity of SWI2/SNF2 class chromatin remodeling complexes // *Biochim. Biophys. Acta.*—2005.—**1681**, N 2–3.—P. 59–73.
31. Flaus A., Martin D., Barton G., Owen-Hughes T. Identification of multiple distinct Snf2 subfamilies with conserved structural motifs // *Nucl. Acids Res.*—2006.—**34**, N 10.—P. 2887–2905.
32. Sarnowski T., Swiezewski Sz., Pawlikowska K., Kaczanowski Sz., Jerzmanowski A. AtSWI3B, an *Arabidopsis* homolog of SWI3, a core subunit of yeast Swi/Snf chromatin remodeling complex, interacts with FCA, a regulator of flowering time // *Nucl. Acids Res.*—2002.—**30**, N 15.—P. 3412–3421.
33. Verbsky M., Richards E. Chromatin remodeling in plants // *Curr. Opin. Plant Biol.*—2001.—**4**, N 6.—P. 494–500.
34. Harbour J., Dean D. Chromatin remodeling and Rb activity // *Curr. Opin. Cell Biol.*—2000.—**12**, N 6.—P. 685–689.
35. Sarnowski T., Rios G., Swiezewski Sz., Kaczanowski Sz., Li Y., Kwiatkowska A., Pawlikowska K., Kozbial M., Kozbial P., Concz C., Jerzmanowski A. SWI3B subunits of putative SWI/SNF chromatin remodeling complex play distinct roles during *Arabidopsis* development // *Plant Cell.*—2005.—**17**, N 9.—P. 2454–2472.
36. Peterson C., Zhao J., Chait B. Subunits of the yeast SWI/SNF complex are members of the actin-related protein (ARP) family // *J. Biol. Chem.*—1998.—**273**, N 37.—P. 23641–23644.
37. Chen M., Shen X. Nuclear actin and actin-related proteins in chromatin dynamics // *Curr. Opin. Cell Biol.*—2007.—**19**, N 3.—P. 326–330.
38. Kwon C., Hibara K., Pfluger J., Bezhani S., Metha H., Aida M., Tasaka M., Wagner D. A role for chromatin remodeling in regulation of CUC gene expression in the *Arabidopsis* cotyledon boundary // *Development.*—2006.—**133**, N 16.—P. 3223–3230.
39. Su Y., Kwon G., Bezhani S., Huvermann B., Chen C., Peragine A., Kennedy J., Wagner D. The N-terminal ATPase A-T hook containing region of the *Arabidopsis*-remodelling protein SPLAYED is sufficient for biological activity // *Plant J.*—2006.—**46**, N 4.—P. 685–699.
40. Farrona S., Hurtado L., Bowman J., Reyes J. The *Arabidopsis thaliana* SNF2 homolog AtBRM controls shoot development and flowering // *Development.*—2004.—**131**, N 20.—P. 4965–4975.
41. Lusser A., Kolle D., Loidl P. Histone acetylation: lessons from the plant kingdom // *Trends Plant Sci.*—2001.—**6**, N 2.—P. 59–65.
42. Fuchs J., Demidov D., Houben A., Schubert I. Chromosomal histone modification patterns – from conservation to diversity // *Trends Plant Sci.*—2006.—**11**, N 4.—P. 199–208.
43. Andrin Ch., Hendzel M. F-actin dependent insolubility of chromatin-modifying components // *J. Biol. Chem.*—2004.—**279**, N 24.—P. 25017–25023.
44. Tian L., Fong M., Wang J., Wei N., Jiang H., Doerge R., Chen Z. Reversible histone acetylation and deacetylation mediate genome-wide, promoter-dependent and locus-specific changes in gene expression during plant development // *Genetics.*—2005.—**169**, N 1.—P. 337–345.
45. Wu K., Malik K., Tian L., Brown D., Miki B. Functional analysis of a RPD3 histone deacetylase homologue in *A. thaliana* // *Plant Mol. Biol.*—2000.—**44**, N 2.—P. 167–176.
46. Tian L., Chen Z. Blocking histone deacetylation in *Arabidopsis* induces pleiotropic effects on plant gene regulation and development // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2001.—**98**, N 1.—P. 200–205.
47. Rossi V., Locatelli S., Varotto S., Donn G., Pirona R., Henderson D., Hartings H., Motto M. Maize histone deacetylase hda101 is involved in plant development gene transcription and sequence-specific modulation of histone modification of genes and repeats // *Plant Cell.*—2007.—**19**, N 4.—P. 1145–1162.
48. Khochbin S., Verdel A., Lemercier C., Seigneurin-Berny D. Functional significance of histone deacetylase diversity // *Curr. Opin. Genet. Devel.*—2001.—**11**, N 2.—P. 162–166.
49. Lusser A., Brosch G., Loidl A., Haas H., Loidl P. Identification of maize histone deacetylase HD2 as an acidic nucleolar phosphoprotein // *Science.*—1997.—**277**, N 5322.—P. 88–91.

50. Wu K., Tian L., Malik K., Brown D., Miki B. Functional analysis of HD2 histone deacetylase homologues in *Arabidopsis thaliana* // Plant J.–2000.–**22**, N 1.– P. 19–27.
51. Harbour J., Dean D. Chromatin remodeling and Rb activity // Curr. Opin. Cell Biol.–2000.–**12**, N 6.–P. 685–689.
52. Fisher U., Kuhlmann M., Pecinka A., Schmidt R., Mette M. Local DNA features affects RNA-directed transcriptional gene silencing and DNA methylation // Plant J.–2008.–**53**, N 1.– P. 1–10.
53. Nakayama J., Rice J., Strahl B., Allis C., Grewal S. Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly // Science.–2001.–**292**, N 5514.– P. 110–113.
54. Li X., Wang X., He K., Ma Y., Su N., He H., Stolz V., Tongprasit W., Jin W., Jiang J., Terzaghi W., Li S., Deng X. High-resolution mapping of epigenetic modifications of the rice genome uncovers interplay between DNA methylation, histone methylation and gene expression // Plant Cell.–2008.–**20**, N 2.–P. 259–276.
55. Jackson J., Johnson L., Jasencakova Z., Zhang X., Perez-Burgos L., Singh P., Cheng X., Schubert I., Jenuwein T., Jacobsen S. Dimethylation of histone H3 lysine 9 is a critical mark for DNA methylation and gene silencing in *A. thaliana* // Chromosoma.–2004.–**112**, N 6.–P. 308–315.
56. Springer N., Napoli C., Selinger D. Comparative analysis of SET-domain proteins in maize and *Arabidopsis* reveals multiple duplications preceding the divergence of monocots and dicots // Plant Physiol.–2003.–**132**, N 2.–P. 907–925.
57. Jackson J., Lindroth A., Cao X., Jacobsen S. Control of CpNpG DNA methylation by the KRYPTONITE histone H3 methyltransferase // Nature.–2002.–**416**, N 6880.–P. 556–560.
58. Naumann K., Fischer A., Hofmann I., Krauss V., Phalke S., Irmeler K., Hause G., Aurich A., Dorn R., Jenuwein T., Reuter G. Pivotal role of AtSUVH2 in heterochromatic histone methylation and gene silencing in *Arabidopsis* // EMBO J.–2005.–**24**, N 7.–P. 1418–1429.
59. Chan S., Henderson I., Jacobsen S. Gardening the genome: DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* // Nat. Rev. Genet.–2005.–**6**, N 12.–P. 351–360.
60. Bannister A., Zegerman P., Partridge J., Miska E., Thomas J., Allshire R., Kouzarides T. Selective recognition of methylated lysine 9 on histone H3 by the HP1 chromodomain // Nature.–2000.–**410**, N 6824.–P. 120–124.
61. Gaudin V., Libault M., Pouteau S., Juul T., Zhao G., Lefebvre G., Grand-Jean O. Mutations in like heterochromatin protein 1 affects flowering time and plant architecture in *Arabidopsis* // Development.–2001.–**128**, N 23.–P. 4847–4858.
62. Zemah A., Li Yan., Ben-Meir H., Oliva M., Mosquna A., Kiss V., Avivi Y., Ohad N., Grafi G. Different domains control the localization and mobility of LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN 1 in *Arabidopsis* nuclei // Plant Cell.–2006.–**18**, N 1.– P. 133–145.
63. Nielsen S., Schneider R., Bauer U., Bannister A. J., Morrison A., O'Carroll D., Firestein R., Cleary M., Jenuwein T., Herrera R., Kouzarides T. Rb targets histone H3 methylation and HP1 to promoters // Nature.–2000.–**412**, N 6846.–P. 561–565.
64. Williams L., Grafi G. The retinoblastoma protein—a bridge to heterochromatin // Trends Plant Sci.–2000.–**5**, N 7.–P. 239–240.
65. Penterman J., Uzawa R., Fischer R. Genetic interactions between DNA demethylation and methylation in *Arabidopsis* // Plant Physiol.–2007.–**145**, N 4.–P. 1549–1557.
66. Kovalchuk I., Abramov V., Pogribny I., Kovalchuk O. Molecular aspects of plant adaptation to life in the Chernobyl zone // Plant Physiol.–2004.–**135**, N 1.–P. 357–363.
67. Singh A., Zubko E., Meyer P. Cooperative activity of DNA methyltransferases for maintenance of symmetrical and non-symmetrical cytosine methylation in *Arabidopsis thaliana* // Plant J.–2008.–**56**, N 4.–P. 814–823.
68. Boyko A., Kovalchuk I. Epigenetic control of plant stress response // Environ. Mol. Mutagen.–2008.–**49**, N 1.–P. 61–72.
69. Soppe W., Jasencakova Z., Houben A., Kakutani T., Meister A., Huang M., Jacobsen S., Schubert J., Fransz P. F. DNA methylation controls histone H3 lysine 9 methylation and heterochromatin assembly in *Arabidopsis* // EMBO J.–2002.–**21**, N 23.– P. 6549–6559.

УДК 577.218:575.113.1

Поступила в редакцию 14.09.09