

## ОСОБЕННОСТИ ИНДУЦИРОВАННОГО СТАРЕНИЯ ЛИСТЬЕВ У ДВОЙНОГО НОКАУТ-МУТАНТА *ARABIDOPSIS THALIANA* ПО ГЕНАМ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

А.А. Власова<sup>1</sup>, Е.Ю. Гарник<sup>2</sup>, В.И. Бельков<sup>2</sup>, В.И. Тарасенко<sup>2</sup>, Ю.М. Константинов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет,  
Иркутск, e-mail: anfi98@bk.ru

<sup>2</sup> ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,  
Иркутск, e-mail: elga74@yandex.ru

Глутаматдегидрогеназа (GDH, EC1.4.1.2) катализирует окислительное дезаминирование глутамата до 2-оксоглутарата, а также обратную реакцию. Поскольку превращение этих метаболитов является связующим звеном между метаболизмом С и N в растениях, GDH, локализованная в митохондриях, играет важную роль в метаболизме растений. В растениях *Arabidopsis thaliana* были клонированы и охарактеризованы три гена, кодирующие GDH, два из которых – *GDH1* и *GDH2* - ответственны за большую часть активности GDH у арабидопсиса (Fontaine et al., 2013).

Существует жизнеспособный двойной нокаут-мутант по генам GDH *gdh1gdh2* (Miyashita and Good, 2008). Нами обнаружено, что мутант *gdh1gdh2* при длительном (4 суток и более) выдерживании растений в темноте сохраняет зеленый цвет листьев, в отличие от растений дикого типа *Col-0*, листья которых при этом желтеют (рис. 1). Это явление (пожелтение и отмирание листьев при длительном выдерживании в темноте) называется индуцированным старением (Lim et al., 2007).

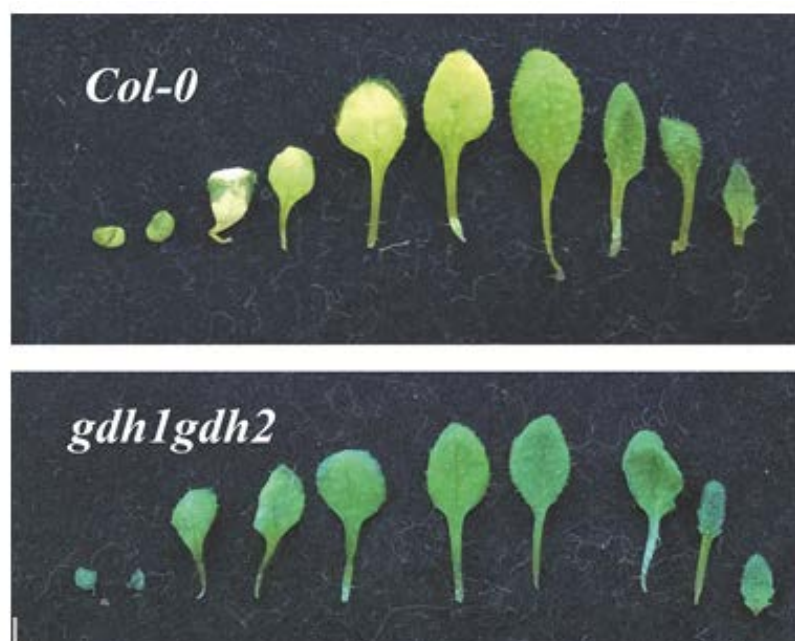


Рис. 1. Полные наборы листьев растений дикого типа *Col-0* и мутанта *gdh1gdh2* после 4 суток выдерживания растений в темноте.

Для того, чтобы проследить, как развивается индуцированное старение листа у растений дикого типа и у мутантных, растения выращивали до возраста 3 недели в чашках Петри, либо 4 недели на земле (стадия вегетации), после этого выдерживали в темноте до 6 суток. Собирали для растений дикого типа отдельно желтые, желтеющие и зеленые листья, для растений *gdh1gdh2* – типично окрашенные листья. Выделяли

РНК и оценивали экспрессию генов методом ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией.

Так как разрушение хлорофилла – главный признак индуцированного старения, а у мутантных растений пожелтение листьев замедлено, то мы исследовали экспрессию генов, ответственных за распад хлорофиллов. Были исследованы следующие гены: *NYC1* – кодирует хлорофилл b-редуктазу, участвующую в деградации хлорофилла b. *PAO* – кодирует феофорбид а оксигеназу, катализирующую превращение феофорбида а в красный катаболит. *PPH* – кодирует феофитиназу, участвующую в деградации хлорофилла. Семейство генов *SGR* (*SGR1*, *SGR2* и *SGRL*) – кодирует группу белков, обеспечивающих разборку хлорофилл-белковых комплексов фотосинтетического аппарата и регуляцию распада хлорофиллов (Tanaka et al., 2011).

Нами обнаружено, что у растений дикого типа по ряду генов экспрессия различается на разных стадиях старения листа: гены экспрессируются на низком уровне в зеленом листе и на высоком уровне в желтеющем. В полностью пожелтевшем листе гены, отвечающие за распад хлорофиллов, экспрессируются либо слабо (*PAO*, *SGR2*), либо на том же уровне, что и в желтеющем листе (*NYC1*, *PPH*, *SGR1*). Вероятно, такие профили экспрессии связаны с завершением распада хлорофиллов. Экспрессия тех же генов в листьях мутанта *gdh1gdh2* находится на таком же низком уровне, как в зеленом листе дикого типа. Это свидетельствует либо о нарушении программы распада хлорофиллов в листьях мутантных растений (что хорошо согласуется с замедлением пожелтения листьев), либо о более раннем начале гибели их листьев. Ранее было показано, что при длительном выдерживании в темноте мутант *gdh1gdh2* начинает погибать раньше, чем растения дикого типа (Miyashita and Good, 2008).

Таким образом, нами обнаружено, что нокаут-мутации по генам *GDH1* и *GDH2* приводят к нарушению механизма развития индуцированного старения.

*Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН.*

#### Литература

Fontaine J.-X., Terce-Laforgue T., Bouton S., Pageau K., Lea P.J., Dubois F., Hirel B. Further insights into the isoenzyme composition and activity of glutamate dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana* // Plant Signalling and Behavior. – 2013. – Vol. 8, N 3. – e23329.

Lim P.O., Kim J.H., Nam H.G. Leaf senescence // Annu. Rev. Plant Biol. – 2007. – Vol. 58. – P. 115–136.

Miyashita Y., Good A.G. NAD(H)-dependent glutamate dehydrogenase is essential for the survival of *Arabidopsis thaliana* during dark-induced carbon starvation // Journal of Experimental Botany. – 2008. – Vol. 59, N 3. – P. 667–680.

Tanaka R., Kobayashi K., Masuda T. Tetrapyrrole metabolism in *Arabidopsis thaliana* // The Arabidopsis Book. – 2011. – e0145.