

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УЧАСТИЕ МЕМБРАННЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЦИТОКИНИНА В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОВ*

М.Н. Данилова, Н.В. Кудрякова, Р. Оельмюллер,
В.В. Кузнецов, О.Н. Кулаева

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия, 127276

Методом *run-on* транскрипции изучили возможную роль мембранных рецепторов цитокинина в регуляции экспрессии хлоропластного генома *Arabidopsis thaliana*. Полученные результаты продемонстрировали ведущую роль гистидинкиназы АНК3 в цитокинин-зависимой регуляции транскрипции хлоропластных генов.

Ключевые слова: цитокинин, гистидинкиназы, транскрипция, хлоропласт, *Arabidopsis thaliana*.

Введение. Цитокинины (ЦК), наряду с другими фитогормонами, контролируют многообразные физиологические реакции растений: стимулируют деление клеток, задерживают распад хлорофилла и старение изолированных листьев, стимулируют деление пластид, а также формирование этиопластов и хлоропластов [1—3].

Согласно современным представлениям, рецепция ЦК осуществляется мембранно-связанными гистидинкиназами, которые воспринимают сигнал внешнего и внутреннего по отношению к растительной клетке ЦК и передают его посредством фосфатного каскада в ядро на цитокинин-специфичные трансфакторы ARR типа В [4], которые активируют гены первичного ответа на ЦК ARR типа А. При помощи такой двукомпонентной сигнальной системы регулируются разнообразные биологические процессы у различных организмов. У *A. thaliana* выявлено три рецептора цитокинина: *Arabidopsis Histidine Kinase 2* (АНК2), *Arabidopsis Histidine Kinase 3* (АНК3) и *Arabidopsis Histidine Kinase 4* АНК4/CRE1/WOL [5], которые имеют высокую гомологию аминокислотного состава, но различаются по некоторым характеристикам: локализации в растении, способности образовывать связи с белками, лигандной специфичности [6; 7].

* Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 11-04-01008.

Пластиды являются важнейшей мишенью цитокининов. Существует несколько разных форм пластид, и переход из одной формы в другую контролируют, наряду с другими факторами, и фитогормоны. Например, ЦК способствуют превращению этиопластов в хлоропласты, формированию системы внутренних мембран и сборке компонентов ЭТЦ хлоропласта [8].

Многообразное влияние цитокининов на хлоропласты главным образом связано с их участием в регуляции экспрессии генов пластидных белков, кодируемых как ядерными, так и пластидными генами [9; 10].

Показано, что экзогенные цитокинины способны задерживать старение отделенных листьев и дольше поддерживать хлоропласты в фотосинтетически активном состоянии [1].

Хлоропласты являются уникальной и неотъемлемой частью растительной клетки, основной их функцией является фотосинтез. Исследования последних лет показали поразительную сложность транскрипционного аппарата хлоропластов высших растений.

Известно, что пластиды имеют собственную ДНК, РНК, рибосомы, а также транскрипционный и трансляционный аппараты. Они содержат, по крайней мере, три РНК полимеразы: РНК полимеразу пластидного кодирования — *plastid-encoded polymerase* (PEP) и две РНК полимеразы ядерного кодирования — *nucleus-encoded polymerase* (NEP), которые узнают многочисленные и довольно разнообразные промоторы пластидных генов. Транскрипция регулируется шестью σ -факторами и рядом других транскрипционных факторов [11].

Большинство генов пластома кодируют продукты, которые прямо или косвенно связаны с функционированием фотосинтетического аппарата. В связи с тем, что цитокинины оказывают множественное действие на хлоропласты, а механизм, посредством которого оно осуществляется, остается малоизученным, представляет большой интерес выяснение роли мембранных рецепторов цитокинина в функционировании хлоропластов, в частности, в регуляции экспрессии пластидного генома на уровне транскрипции. Для выяснения этого вопроса удобным модельным объектом являются одинарные и двойные инсерционные мутанты по мембранным рецепторам цитокинина.

Объект исследования и условия выращивания. В качестве объекта исследований было выбрано модельное растение *Arabidopsis thaliana* (L.) *Heynh.* (сем. Крестоцветные), экотип Columbia, одинарные и двойные инсерционные мутанты, полученные на его основе, с инактивированными генами одного или двух рецепторов цитокинина [5]. В работе использовали интактные розеточные листья трехнедельных растений *A. thaliana*, так как они представляют собой однородный биологический материал и несут развитые функционально активные хлоропласты. Для синхронизации прорастания семена предварительно стратифицировали в течение 3 дней при температуре 4—6 °С. Растения выращивали в почве при температуре 23 °С, интенсивности освещения 150 $\mu\text{E}/(\text{m}^{-2}\text{c}^{-1})$, световом режиме 16 час. день, 8 час. ночь. Возраст растений определяли с момента прорастания семян.

Методы исследования. Интенсивность транскрипции хлоропластных генов определяли с помощью метода run-on транскрипции, у которого условно можно выделить четыре этапа: 1) подготовка мембран с фрагментами изучаемых генов; 2) выделение хлоропластов; 3) проведение реакции транскрипции и выделение вновь синтезированных транскриптов; 4) ДНК-РНК гибридизация, отмывка мембран, анализ данных [12].

Приготовление мембран, несущих фрагменты ДНК анализируемых генов. Ген-специфичные фрагменты ДНК получали с помощью ПЦР и наносили на нейлоновую мембрану в точки при помощи специального аппарата, применяемого для дот-гибридизации (Bio-Dot™, «Bio-Rad», США). Праймеры для амплификации фрагментов хлоропластных генов *A. thaliana* подбирали при помощи программы Vector NTI. Вся процедура приготовления мембран была выполнена, как описано ранее [12].

Выделение органелл. Все манипуляции при выделении хлоропластов проводили при температуре 0—4 °С. Навеску растительной ткани быстро гомогенизировали с помощью миксера в буфере следующего состава: 0,33 М сорбит; 50 мМ трицин, рН 8,0; 2 мМ ЭДТА; 5 мМ β-меркаптоэтанол. На 10 г растительной ткани брали 80 мл буфера. Гомогенат фильтровали через один слой марли и два слоя мираклоса (Miracloth, «Calbiochem-Behring», La Jolla, CA 92037). Полученный фильтрат центрифугировали 5 мин при 3500 г. Осадок осторожно ресуспендировали в 1 мл буфера для гомогенизации мягкой кисточкой.

Для получения интактных хлоропластов полученную суспензию хлоропластов наслаивали на ступенчатый градиент перкола (40/70%) и центрифугировали 15 мин при 5000 г. После центрифугирования фракцию интактных хлоропластов отмывали от перкола 50 мл буфера для гомогенизации и центрифугировали 5 мин при 3500 г. Затем осадок хлоропластов ресуспендировали в 1 мл буфера для гомогенизации. Далее производили подсчет выделенных хлоропластов при помощи светового микроскопа и камеры Горяева и использовали равное количество органелл для каждого варианта опыта.

Транскрипция in vitro. Выделение вновь синтезированной меченой РНК. Для проведения реакции транскрипции к осадку хлоропластов добавляли 50 мкл транскрипционной среды (50 мМ ТрисНCl рН 8,0; 10 мМ MgCl₂; 0,2 мМ ЦТФ, ГТФ, АТФ; 0,01 мМ УТФ; 10 мМ β-меркаптоэтанол), перемешивали и инкубировали в течение 10 мин. при температуре 25 °С. Далее реакцию останавливали добавлением 100 мкл «стоп»-буфера (50 мМ трис-НCl рН 8,0; 25 мМ ЭДТА и 5% саркозил натрия). Нуклеиновые кислоты, в том числе вновь синтезированные радиоактивно меченые транскрипты хлоропластных генов, выделяли, как описано в ранее опубликованной статье [12].

ДНК-РНК гибридизация, отмывка мембран и анализ полученных данных. Гибридизация проводилась при 58 °С в течение ночи в специальном буфере для гибридизации (250 мМ Na₂HPO₄, 7% SDS и 2,5 мМ ЭДТА). Оценка результатов производилась при помощи фосфоимиджера (GE Healthcare, США).

Интенсивность транскрипции в лизатах хлоропластов опытных и контрольного образцов оценивали по величине радиоактивного сигнала на мембране, который был результатом гибридизации радиоактивно меченых транскриптов, синтезированных *in vitro*, с фрагментами генов, нанесенных на мембрану.

Интенсивность транскрипции генов выражали в условных единицах или в виде отношения интенсивности транскрипции опытного варианта к интенсивности транскрипции в контрольном варианте (относительная интенсивность транскрипции). Достоверным считается изменение интенсивности транскрипции гена в два раза и более в опытных вариантах по сравнению с контролем.

Результаты исследований. Для анализа были выбраны представители функционально различных групп генов пластома *A. thaliana*.

Во-первых, это гены, продукты которых необходимы для фотосинтеза, а именно: ген *rbcl*, кодирующий большую субъединицу рибулозобифосфаткарбоксилазы, гены *psaA* и *psaB* — кодирующие полипептиды фотосистемы I, гены *psbA* и *psbD* — субъединицы фотосистемы II, гены *atpB* и *atpI* — субъединицы АТФ синтазного комплекса, ген *ndhA* — полипептид НАДФН дегидрогеназного комплекса, ген *petD* — компонент цитохром *b6/f* комплекса.

Во-вторых, это гены «домашнего хозяйства»: ген *groB*, который кодирует β -субъединицу РНК-полимеразы пластидного кодирования, а также ген рибосомной РНК — *rnl16*.

Как показали результаты проведенных экспериментов, транскрипционная активность изученных хлоропластных генов из группы генов «домашнего хозяйства» и генов фотосинтетических белков незначительно варьировала в сравнении с транскрипционной активностью генов растений дикого типа. В то же время выбранные для анализа хлоропластные гены отличались между собой по активности транскрипции (рис. 1а).

Во всех исследованных вариантах опыта скорость транскрипции была наиболее высокой для *rnl16*, *psbA*, *psbD*, *rbcl*, *psaA* генов, причем транскрипционная активность *psbA* гена вдвое превышала активность *rbcl* гена (рис. 1а). Ген *psbA* кодирует белок D1, который синтезируется быстрее, чем любой другой белок фотосинтетических мембран. Это связано с тем, что гены белков фотосистемы II наиболее подвержены фотоиндуцированным повреждениям и имеют наиболее короткий период полураспада. Именно поэтому высокая транскрипционная активность и большая скорость синтеза белка D1 позволяет быстро восстанавливать повреждения. Остальные гены: *psaB*, *atpB*, *ndhA*, *clpP*, *petD* и *groB* транскрибировались с меньшей интенсивностью (рис. 1а).

Различия в транскрипционной активности, вероятно, обусловлены неодинаковой «силой» промоторов этих генов, а также, возможно, особенностями состояния хлоропластов на данном этапе онтогенеза. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что недостаток одного из трех мембранных рецепторов цитокининов слабо влияет на транскрипционную активность исследованных хлоропластных генов. Вероятно, это объясняется тем, что недостаток в клетке одного рецептора компенсируется присутствием двух других рецепторов ЦК.

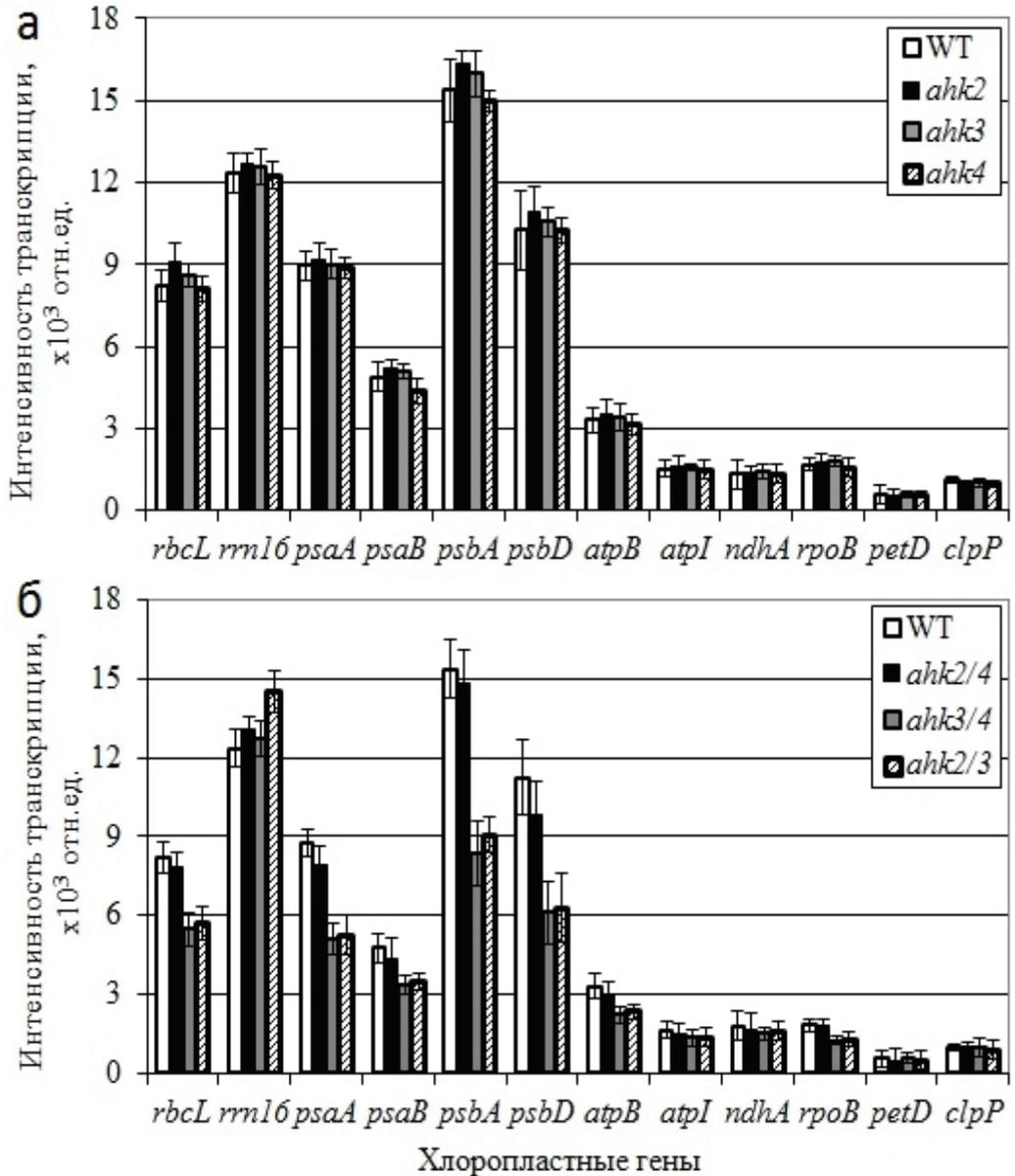


Рис. 1. Интенсивность транскрипции хлоропластных генов в трехнедельных розеточных листьях *A. thaliana* у одинарных (а) и двойных (б) мутантов по генам мембранных рецепторов цитокининов
Приведены средние значения и их стандартные отклонения

Исследование скорости транскрипции хлоропластных генов у двойных мутантов по рецепторам цитокинина *ahk2ahk3* и *ahk3ahk4* выявило некоторые отличия в сравнении с диким типом: эти два мутанта имели наиболее сниженную транскрипционную активность *psbA* и *psbD* генов по сравнению с диким типом. Гены *psaA*, *psaB*, *rbcL* и *atpB* также имели сниженный уровень транскрипции по сравнению с диким типом, хотя в меньшей степени (рис. 1б).

В то же самое время у двойных мутантов *ahk2ahk4* и *ahk3ahk4* ген *rrn16* имел нормальную и повышенную в случае двойного мутанта *ahk2ahk3* транскрипционную активность (рис. 1б).

Предположительно, именно отсутствие активного АНКЗ рецептора обуславливало снижение интенсивности транскрипции некоторых фотосинтетических генов и, вероятно, именно эта гистинкиназа участвует в восприятии цитокининового сигнала в хлоропластах. Двойной мутант *ahk2ahk4* по транскрипционной активности исследуемых хлоропластных генов был наиболее близок к дикому типу (рис. 1б).

Следует заметить, что двойной мутант *ahk2ahk4* имеет функционально активный АНКЗ рецептор. Можно предположить, что именно присутствие функционально активного АНКЗ рецептора обеспечивает стабильную транскрипционную активность хлоропластных генов и что именно он играет основную роль в регуляции экспрессии фотосинтетических хлоропластных генов на уровне транскрипции. Полученные результаты косвенно подтверждаются тем, что у *A. thaliana* именно АНКЗ рецептор доминирует в надземной части растения [6].

Для того чтобы изучить способность мутантов отвечать на воздействие экзогенного цитокинина, интактные растения *A. thaliana* обрабатывали раствором БАП (5 мкМ).

Через 6 часов после обработки растений происходила дифференциальная активация транскрипции хлоропластных генов, причем профиль активации генов у одинарных мутантов был сходным с профилем транскрипции генов у растений дикого типа (рис. 2а). Наиболее высоко-индуцируемым являлся *rrn16* ген, транскрипционная активность которого возрастала почти в 8,5 раз. Активность транскрипции *psbA*, *psbD*, *psaA* и *atpB* генов также значительно возрастала под действием экзогенного гормона, как у дикого типа, так и у одинарных мутантов (рис. 2а). Ген *proB* также отвечал на обработку гормоном, но гораздо слабее. Некоторые гены (*petD*, *clpP* и *atpI*) на обработку гормоном не отвечали ни у дикого типа, ни у мутантов. Ярким примером дифференциальной чувствительности к цитокинину генов, кодирующих компоненты одного мультибелкового комплекса, являются *atpB* и *atpI* гены, кодирующие субъединицы АТФ синтазы, в то время как транскрипция гена *atpB* сильно активировалась в ответ на обработку БАП (в 3,5 раза), транскрипционная активность гена *atpI* не изменялась под действием гормона ни у дикого типа, ни у мутантов (рис. 2а).

Из полученных данных можно сделать вывод, что повышение скорости транскрипции хлоропластных генов под действием цитокинина у одинарных мутантов сопоставимо с диким типом и что одинарные мутации не оказывали заметного влияния на чувствительность растений к цитокинину.

Обработка двойных мутантов цитокинином на свету (БАП, 5 мкМ) показала, что через 6 часов наибольший активирующий эффект БАП (в 2,5—3 раза) наблюдался для генов, кодирующих компоненты ФСП (*psbA* и *psbD*) и 16S рибосомную РНК (*rrn16*) (рис. 2б).

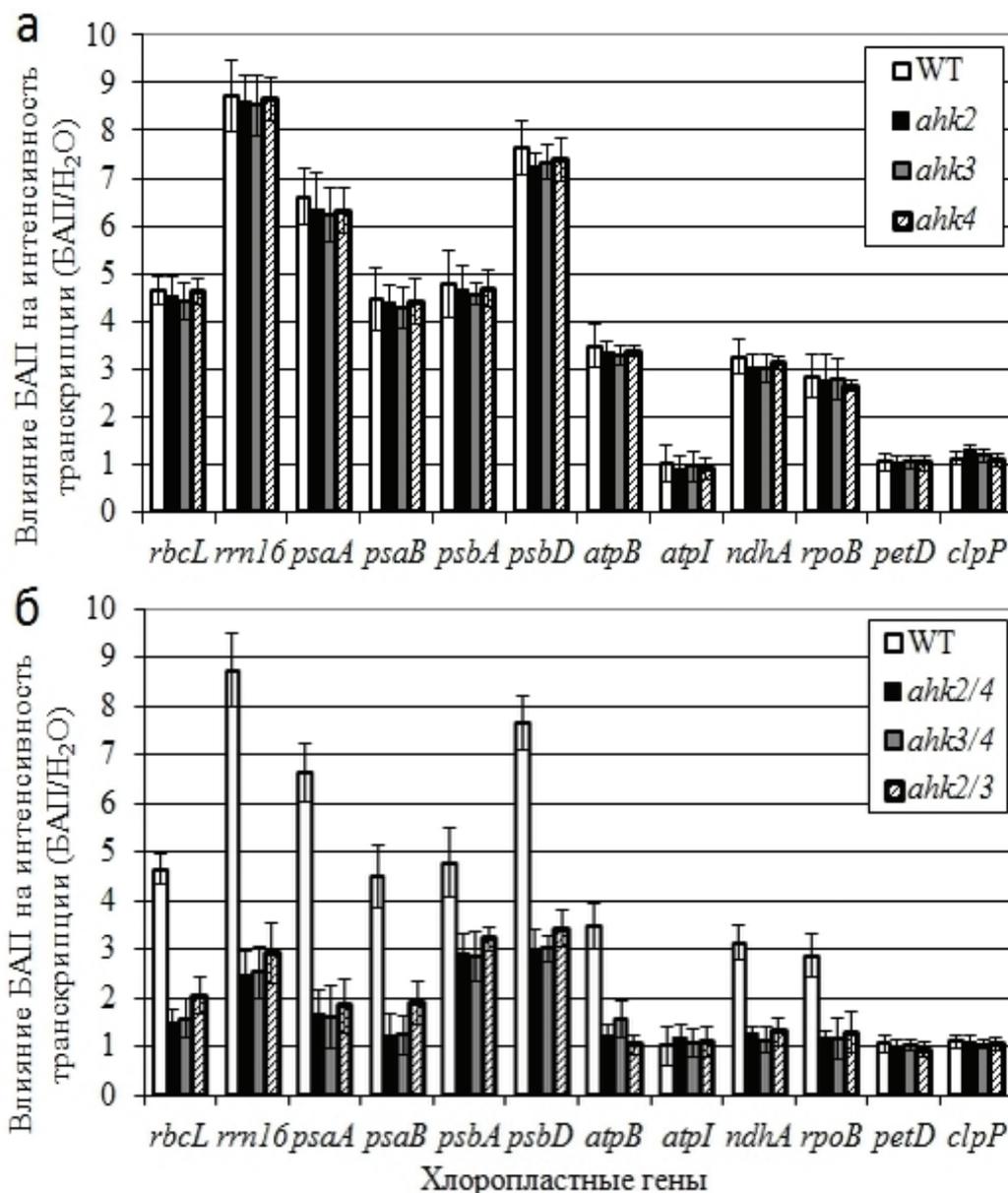


Рис. 2. Влияние цитокинина на интенсивность транскрипции хлоропластных генов в трехнедельных розеточных листьях *A. thaliana* у одинарных (а) и двойных (б) *ahk* мутантов.

Результаты представлены в виде отношения интенсивности транскрипции хлоропластных генов при обработке листьев раствором БАП к интенсивности транскрипции в листьях, обработанных водой

При этом у двойного мутанта *ahk2ahk3* наблюдалась тенденция к активации транскрипции *rbcL*, *psaA* и *psaB* генов. У двойных мутантов *ahk2ahk4* и *ahk3ahk4* транскрипция *rbcL*, *psaA*, *psaB*, *atpB*, *ndhA* и *rpoB* генов была нечувствительной к цитокинину. Гены *atpI*, *clpP* и *petD* не отвечали на обработку гормоном как у дикого типа, так и у двойных мутантов (рис. 2б).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют в пользу дифференциальной регуляции транскрипции цитокинином хлоропластных генов в листьях трехнедельных растений *A. thaliana* дикого типа, одинарных и двойных мутантов по рецепторам цитокинина.

Обсуждение результатов исследования. В последнее десятилетие получены исключительно важные результаты в части изучения механизма действия цитокинина. Одной из главных мишеней ЦК в растительной клетке являются хлоропласты, однако механизм, посредством которого осуществляется это влияние, остается малоизученным.

Несмотря на то, что показано присутствие в хлоропластах широкого спектра ЦК [13], остается совершенно неисследованным вопрос о наличии хлоропластных рецепторов цитокинина.

В связи с этим особый интерес представляет выяснение роли известных мембранных рецепторов цитокининов как в регуляции биогенеза хлоропластов, так и в регуляции экспрессии пластидного генома на уровне транскрипции. В настоящее время одним из основных подходов в исследовании физиологических процессов и механизмов их регуляции у растений является анализ трансгенных растений с избирательным подавлением функции индивидуальных генов или групп генов, полученных методами инсерционного мутагенеза. В работе использовались растения *Arabidopsis thaliana* с нарушенной функцией одной или двух из трех рецепторных гистидинкиназ. Фенотипически одинарные и двойные инсерционные мутанты не отличались от дикого типа, за исключением двойного мутанта по *ahk2ahk3* киназам, у которого, по сравнению с диким типом, меньше листья и короче стебель, то есть фенотип полукарлика.

Использование указанных растений позволило оценить возможное влияние отсутствия этих рецепторов на экспрессию хлоропластных генов на уровне транскрипции.

Установлено, что недостаток одной из трех гистидинкиназ существенно не влиял на транскрипционную активность исследованных хлоропластных генов. Обработка растений экзогенным ЦК приводила к дифференциальной активации транскрипции некоторых хлоропластных генов. Однако вопреки нашим ожиданиям у одинарных мутантов чувствительность к цитокинину по скорости транскрипции пластидных генов практически не отличалась от таковой у растений дикого типа.

Это подтверждается тем, что цитокинин-индуцируемое побегообразование у одинарных мутантов по генам рецепторов цитокинина и растений дикого типа происходило сходным образом [6].

Таким образом, вероятно, при отсутствии одного рецептора в клетке (АНК2, АНК3 или АНК4) могут включаться компенсаторные механизмы, способствующие нормальному восприятию ЦК сигнала.

Исследование транскрипционной активности хлоропластных генов у двойных мутантов с нефункциональным рецептором АНК3 выявило снижение транскрип-

ционной активности генов фотосистем I и II на фоне обычной транскрипционной активности гена *rrn16*. Следовательно, нормальную транскрипцию хлоропластных генов определяло присутствие функционально активного АНКЗ рецептора.

Транскрипция хлоропластных генов зависит от стадии развития растения и условий окружающей среды, а также от способности хлоропластной РНК-полимеразы пластидного кодирования (PEP) взаимодействовать со специфическими регуляторными белками (σ -факторами), которые могут быть доступны только при определенных условиях.

Несмотря на то что до сих пор нет неоспоримых доказательств существования гистидинкиназ в хлоропластах, показано, что локализованная в пластидах серин/треониновая киназа из семейства *srCK2* принимает активное участие в регуляции транскрипции хлоропластных генов [14]. Эта киназа способна изменять степень фосфорилирования σ -факторов [14] и, как следствие, контролировать образование комплекса, состоящего из σ -фактора и РНК-полимеразы пластидного кодирования с промоторными участками гена, регулируя инициацию и элонгацию транскрипции.

Можно предположить, что отсутствие АНКЗ киназы у двойных мутантов, по-видимому, обуславливает специфическое ингибирование скорости транскрипции фотосинтетических генов, затрагивая один из нескольких этапов регуляции экспрессии хлоропластных генов. Вероятно, в норме эта гистидинкиназа обеспечивает стабильную транскрипцию хлоропластных генов у *A. thaliana*.

Возникает вопрос: почему одинарный мутант по АНКЗ рецептору имеет нормальную транскрипционную активность, в то время как двойные мутанты с нефункциональным геном АНКЗ имеют подавление по некоторым хлоропластным генам? Несомненно, методы обратной генетики достаточно информативны, однако зачастую при инактивации исследуемого гена за счет включения неизвестных компенсаторных путей сложно определенно судить о его функции в растениях дикого типа. Исследование чувствительности к цитокинину двойных мутантов показало, что достоверно активировались только три гена — *rrn16*, *psbA* и *psbD*.

Таким образом, на транскрипционном уровне двойные мутанты оказались менее восприимчивыми к экзогенному гормону, но так же, как и одинарные мутанты, и растения дикого типа обнаружили дифференциальную чувствительность к цитокинину хлоропластных генов. Дифференциальная активация транскрипции хлоропластных генов ранее была продемонстрирована на ячмене [15].

Подобная регуляция индивидуальных генов, не связанная с общей транскрипционной активацией всего хлоропластного генома, свидетельствует о существовании особых механизмов запуска экспрессии пластидных генов в ответ на действие ЦК, которые пока неизвестны.

Тем не менее, участие кодируемых ядром гистидинкиназ в дифференциальной активации транскрипции хлоропластных генов, продемонстрированное в данной работе, позволяет предполагать, что воздействие ЦК на экспрессию пластома, по крайней мере, частично может быть опосредовано через ядерный геном.

Авторы выражают искреннюю признательность профессору Нишимура (университет Ноагойи, Япония) за предоставление семян мутантных линий *Arabidopsis*.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функции. — М.: Наука, 1973.
- [2] Хохлова В.А. Действие цитокинина на формирование пластид на свету и в темноте в изолированных семядолях тыквы // Физиология растений. — 1977. — Т. 24. — С. 1186—1192.
- [3] Chory J., Reinecke D., Sim S. et al. A role for Cytokinin in De-etiolation in *Arabidopsis* det Mutants Have an Altered Response to Cytokinins // *Plant Physiol.* — 2004. — V. 134. — P. 1050—1057.
- [4] Kakimoto T. Perception and signal transduction of cytokinins // *Annu. Rev. Plant Biol.* — 2003. — V. 54. — P. 605—627.
- [5] Nishimura C., Ohashi Y., Sato S. et al. Histidine Kinase Homologs That Act as Cytokinin Receptors Possess Overlapping Functions in the Regulation of Shoot and Root Growth in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* — 2004. — V. 16. — P. 1365—1377.
- [6] Higuchi M., Pischke M.S., Mähönen A.P. In planta functions of the *Arabidopsis* cytokinin receptor family // *PNAS.* — 2004. — V. 101. — № 23. — P. 8821—8826.
- [7] Spichal L., Rakova N.Y., Riefler M. et al. Two Cytokinin Receptors of *Arabidopsis thaliana*, CRE1/AHK4 and AHK3, Differ in Their Ligand Specificity in a Bacterial Assay // *Plant Cell Physiol.* — 2007. — V. 45. — P. 1299—1305.
- [8] Kusnetsov V.V., Oelmüller R., Sarwat M.I., Porfirova S.A., Cherepneva G.N., Herrmann R.G., Kulaeva O.N. Cytokinins, abscisic acid and light affect accumulation of chloroplast proteins in *Lupinus luteus* cotyledons without notable effect on steady-state mRNA levels // *Planta.* — 1994. — V. 194. — P. 318—327.
- [9] Schmulling T., Schafer S., Romanov G. Cytokinins as regulators of gene expression // *Physiol Plant.* — 1997. — V. 100. — P. 505—519.
- [10] Zubo Y.O., Selivankina S.Y., Yamburenko M.V. et al. Cytokinins activate transcription of chloroplast genes // *Dokl Biochem and Biophys.* — 2005. — V. 400. — № 3. — P. 396—399.
- [11] Liere K, Börner T. Transcription and transcriptional regulation in plastids // *Topics in Current Genetics: Cell and Molecular Biology of Plastids.* — 2007. — V. 19. — P.121—174.
- [12] Зубо Я.О., Кузнецов В.В. Применение метода run-on транскрипции для изучения регуляции экспрессии пластидного генома // Физиология растений. — 2008. — Т. 55. — № 1. — С. 114—122.
- [13] Benkova E., Witters E., van Dongen W. et al. Cytokinins in tobacco and wheat chloroplasts. Occurrence and changes due to light/dark treatment // *Plant Physiol.* — 1999. — V. 121. — P. 245—251.
- [14] Ogrzewalla K., Piotrowski M., Reinbothe S. et al. The plastid transcription kinase from mustard (*Sinapis alba* L.). A nuclear-encoded CK2-type chloroplast enzyme with redox-sensitive function // *Eur. J. Biochem.* — 2002. — V. 269. — P. 3329—3337.
- [15] Zubo Y.O., Yamburenko M.V., Selivankina S.Y. Cytokinin Stimulates Chloroplast Transcription in Detached Barley Leaves // *Plant Physiology.* — 2008. — V. 148. — P. 1082—1093.

INVOLVEMENT OF MEMBRANE CYTOKININ RECEPTORS IN THE REGULATION OF CHLOROPLAST GENOME TRANSCRIPTION

**M.N. Danilova, N.V. Kudryakova, R. Oelmüller,
V.V. Kusnetsov, O.N. Kulaeva**

Timirjazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Science
Botanicheskaya str., 35, Moscow, Russia, 127276

By means of run-on transcription assay we studied the role of membrane receptors of cytokinin in the regulation of the chloroplast genes transcription in *Arabidopsis thaliana*. The results obtained showed differential regulation of the chloroplast genome transcription by cytokinin and the leading role of AHK3 in this process.

Key words: cytokinin, histidine kinases, transcription, chloroplast, *Arabidopsis thaliana*.