

УДК 581.1

ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ СЕМЕЙСТВА GLKs УЧАСТВУЮТ В ЦИТОКИНИН-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ПЛАСТИДНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ *SCA3* В ХОДЕ ДЕЭТИОЛЯЦИИ *Arabidopsis thaliana*

© 2022 г. А. С. Дорошенко^{1,*}, А. М. Малюкова^{1,2}, М. Н. Данилова¹,
член-корреспондент РАН Вл. В. Кузнецов¹, В. В. Кузнецов¹

Поступило 05.04.2022 г.

После доработки 27.05.2022 г.

Принято к публикации 01.06.2022 г.

Светозависимые транскрипционные факторы GLKs *Arabidopsis thaliana* принимают участие в антероградном контроле формирования хлоропластов в ходе деэтиоляции: регулируют экспрессию фотосинтетических генов ядерного кодирования, а также опосредуют транскрипцию пластидных генов. Наряду со светом биогенез хлоропластов определяется факторами эндогенной природы – фитогормонами, среди которых цитокинины значительно ускоряют формирование фотосинтетически активных пластид. В настоящей работе показано, что *транс*-факторы GLKs функционируют как цитокинин-зависимые регуляторы, опосредуя позитивное влияние цитокинина на экспрессию пластома через активацию транскрипции ядерного гена *SCA3*, кодирующего пластидную РНК-полимеразу RPOTr.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, деэтиоляция, цитокинины, транскрипционные факторы, экспрессия генов, биогенез хлоропластов

DOI: 10.31857/S2686738922050079

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на важнейшую роль хлоропластов в жизни растений, молекулярные механизмы их биогенеза остаются мало изученными. Формирование хлоропластов обычно происходит либо из пропластид в меристематических тканях, либо из этиопластов в процессе деэтиоляции растений.

Главным экзогенным фактором, определяющим биогенез фотосинтетически активных хлоропластов из этиопластов, является свет [1]. Свет разного качества воспринимается той или иной группой рецепторов, в большей степени, в цитоплазме, после чего сигнал поступает в ядро, что приводит к масштабному изменению экспрессии ядерных генов растительной клетки, многие из которых кодируют структурные и регуляторные белки хлоропластов. Контроль биогенеза фотосинтетически активных пластид белками ядерного кодирования называется антероградной регу-

ляцией, которая играет, вероятно, ведущую роль на всех этапах биогенеза хлоропластов.

Одним из наиболее ярких примеров антероградного контроля формирования хлоропластов является перепрограммирование экспрессии пластидных генов вследствие свето- и гормон-зависимого изменения активности аппарата транскрипции пластид в ходе деэтиоляции. В этиопластах транскрипцию, главным образом, осуществляют РНК-полимеразы типа NEP (Nuclear-Encoded RNA Polymerase) ядерного кодирования RPOTr и, в меньшей степени, RPOTrp, которые транскрибируют в значительной мере гены “домашнего хозяйства”. Вторая мультисубъединичная РНК-полимераза PEP (Plastid-Encoded RNA Polymerase) состоит из коровых субъединиц α , β , β' и β'' пластидного кодирования и проявляет слабую транскрипционную активность в нефотосинтезирующих пластидах. В ходе деэтиоляции PEP-полимераза претерпевает значительные структурные изменения за счет формирования комплекса с одним из сигма-факторов (SIG1-SIG6) и белками ядерного кодирования, ассоциированными с PEP (PAP1-PAP12), после чего PEP-полимераза инициирует транскрипцию фотосинтетических генов пластома [2]. Таким образом, ядерный геном контролирует транскрипци-

¹ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail: anastasiya04101993@gmail.com

онную активность пластидного генома путем координации транскрипции генов РНК-полимераз RPOTr и RPOTrp, сигма-факторов и PAP белков.

Ключевыми регуляторами экспрессии ядерного генома являются светозависимые факторы транскрипции. У *A. thaliana* были идентифицированы два *транс*-фактора GLK1 и GLK2 (Golden two-Like), инактивация которых приводит к нарушениям биогенеза хлоропластов [3] вследствие снижения транскрипции ядерных генов, кодирующих ферменты биосинтеза хлорофилла, белки фотосинтетических комплексов и тилакоидных мембран [4].

Помимо света, программа деэтиоляции определяется факторами эндогенной природы – фитогормонами, среди которых цитокинины (ЦК) способны ускорять формирование хлоропластов [5]. Убедительно показано, что ЦК позитивно регулируют экспрессию генов ферментов биосинтеза хлорофилла и белков аппарата транскрипции пластома, стимулируют накопление фотосинтетических пигментов и ускоряют формирование ультраструктуры хлоропластов [6, 7]. В ряде тестов в действии света и ЦК наблюдается синергический эффект, что допускает возможность пересечения путей передачи сигнала света и цитокининов [6–8]. К настоящему времени показано, что одной из “точек пересечения” является светозависимый *транс*-фактор HY5, инактивация которого приводит к уменьшению позитивного действия ЦК в ходе деэтиоляции [8]. Однако отсутствие HY5 не исключает эффект ЦК, что позволяет предположить участие и других светозависимых *транс*-факторов, опосредующих действие ЦК в ходе деэтиоляции [9].

Как уже упоминалось, у *A. thaliana* инактивация генов двух *транс*-факторов GLK1 и GLK2 приводит к нарушению транскрипции как ядерных, так и пластидных фотосинтетических генов [3, 4]. Кроме того, Kobayashi и соавт. [10] показали, что белки GLKs участвуют в реализации позитивного эффекта ЦК на накопление хлорофилла в ходе деэтиоляции корней, а экспрессия гена *GLK2* активируется гормоном. Эти результаты наводят на мысль о возможном участии GLKs в регуляции экспрессии ядерных генов аппарата транскрипции пластид светом и ЦК. В данной работе мы впервые продемонстрировали вовлечение *транс*-факторов GLKs в цитокинин-зависимую регуляцию экспрессии ядерного гена *SCA3*, кодирующего пластидную РНК-полимеразу, что приводит к изменению экспрессии пластидных генов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили растения дикого типа *Arabidopsis thaliana* экотипа Columbia-0 и созданного на его основе нокаут-мутанта по генам *транс*-факторов *glk1glk2* (N9807, NASC, Великобритания). Наличие инсерции dSpm в генах *GLK1* и *GLK2* [3] доказано методом ПЦР с использованием праймеров, фланкирующих вставку на ген *GKL1: Spm5* (F) 5'-ggatccgacactctttaattaactgacact-3'; (R) 5'-acttcttcacctttcccgaacta-3'; на ген *GLK2: Spm1* (F) 5'-cctatttcagtaagagtgtgggtttgg-3'; (R) 5'-aacaatctttacttttccctttacg-3'. ПЦР-анализ с ДНК нокаут-мутанта *glk1glk2* подтвердил наличие вставок dSpm в генах *GLK1* и *GLK2*. Амплификация с ДНК из растений дикого типа показала отсутствие конструкций dSpm в растениях материнской линии *A. thaliana*. Таким образом, подтверждена гомозиготность нокаут-линий *glk1glk2 A. thaliana*, полученных из банка семян NASC.

Для изучения участия *транс*-факторов GLK1 (*AT2G20570*) и/или GLK2 (*AT5G44190*) в цитокинин-зависимой регуляции экспрессии гена *SCA3* в ходе деэтиоляции применяли экспериментальную постановку, разработанную Chory и соавт. [11]. Семена *A. thaliana* дикого типа и нокаут-мутанта *glk1glk2* стерилизовали раствором гипохлорита натрия и высевали на чашки Петри с питательной средой Мурасиге-Скуга, содержащей ½ питательных элементов (“Duchefa”, Нидерланды) без сахарозы и цитокинина или с добавлением *транс*-зеатина (1 мкМ). Семена стратифицировали в течение 4 дней при +4°C, после чего чашки Петри переносили на +22°C в условия полной темноты. По истечении 4 сут с момента прорастания растения фиксировали в жидком азоте при слабом зеленом освещении ($5 \pm 2 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$). Оставшуюся часть проростков переносили на белый свет с интенсивностью $120 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ в климатическую камеру MLR-352H-PE (Сапуо, Япония) и фиксировали в жидком азоте спустя 6 и 16 ч.

Относительный уровень транскриптов оценивали методом ПЦР в режиме реального времени после обратной транскрипции (ПЦР-РВ) с использованием амплификатора LighCyclerR96 (“Roche”, Швейцария). Количество транскриптов целевых генов нормировали относительно содержания мРНК референсного гена полиубиквитина *UBQ10* (*AT4G05320*). Для ПЦР-РВ анализа использовали следующие пары праймеров: *ARR5* – (F) ctactcgcagctaaaacgc; (R) gccgaagaatcaggaca; *GLK1* – (F) tcggactaaaatggatggcttg; (R) ggtagaaggcggaggaagtgtttg; *GLK2* – (F) gccaaacasaagcctaactccg; (R) tgtggatagagtgttctctgatgc; *SCA3* – (F) ttgctgctgcttctattctgc; (R) gcacaatcacaagccaact; *accD* – (F) gctaccaatcaatgtttacctc; (R) gattgataatcacaataaacgc; *clpP* – (F) cattccagatattaccatcca; (R) gc-caagaggttgataccgaa; *UBQ10* – (F) gcgtctctggtg-

gttctaa; (R) gaaagagataacaggaacggaaca. Образцы анализировали в трех биологических повторностях, каждая из которых включала по 3–4 аналитических повтора. Статистическая обработка проводилась согласно критерию Стьюдента (t-test) (* $-p < 0.05$, ** $-p < 0.01$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние цитокинина на морфологию проростков дикого типа и нокаут-мутанта *glk1glk2 A. thaliana*. Семейство белков GLKs включает два транскрипционных фактора – GLK1 и GLK2, функции которых в значительной степени перекрываются. Нокаут-мутанты первого порядка имеют слабые фенотипические отличия от растений дикого типа, в то время как двойной мутант *glk1glk2*, который мы используем в данной работе, отличается от материнской линии меньшим размером розетки и пониженным содержанием хлорофилла (рис. 1а) [3].

Одним из характерных эффектов ЦК является укорочение гипокотыля проростка в темноте [11]. В условиях нашего эксперимента проростки дикого типа и двойного нокаут-мутанта *glk1glk2*, выращенные на питательной среде без ЦК, фенотипически не отличались (рис. 1б). Добавление в среду для выращивания *транс*-зеатина (1 мкМ) приводило к подавлению роста гипокотыля у растений дикого типа на 46% (без цитокинина 12.6 ± 1.5 мм, с *транс*-зеатином – 6.88 ± 1.6 мм). Растения нокаут-мутанта *glk1glk2* в присутствии ЦК имели длину гипокотыля на 38% короче, чем проростки, выращенные без гормона (без ЦК – 12.9 ± 1.4 мм, с *транс*-зеатином – 8.11 ± 1.45 мм). Этот результат подтверждает эффективность действия ЦК в условиях нашего эксперимента, а также указывает на чувствительность мутанта к экзогенному гормону.

Мутации по генам *транс*-факторов GLKs (*glk1glk2*) не нарушают чувствительность растений к цитокину. Для подтверждения чувствительности нокаут-мутанта *glk1glk2* к экзогенному ЦК мы изучили динамику содержания транскриптов гена семейства регуляторов ответа на цитокинин типа-А *ARR5*. Характерной особенностью данного семейства генов является их быстрая индукция в ответ на ЦК [12].

Результаты ПЦР в режиме реального времени показали увеличение уровня транскриптов гена *ARR5* в проростках дикого типа и нокаут-мутанта *glk1glk2* как в условиях темноты, так и в ходе цитокинин-зависимой деэтиоляции (рис. 2). При этом динамика содержания транскриптов исследуемого гена в проростках дикого типа и мутанта *glk1glk2* была сходной.

Эти результаты позволяют заключить, что мутации по генам *транс*-факторов GLKs не влияют

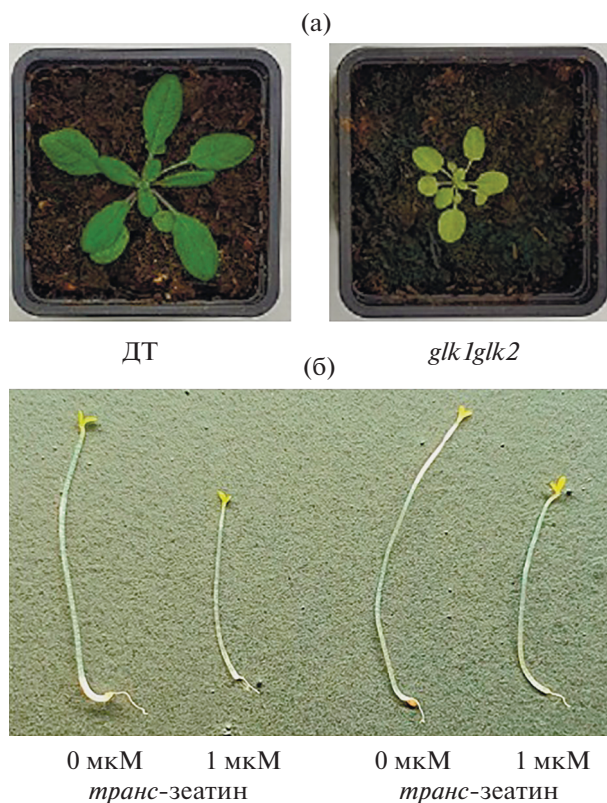


Рис. 1. Морфология растений дикого типа и нокаут-мутанта *glk1glk2 A. thaliana*. а – 3-недельные растения, слева – дикого типа (ДТ), справа – нокаут-мутанта *glk1glk2*; б – 4-дневные этиолированные проростки дикого типа и *glk1glk2*, выращенные на питательной среде без гормона (0 мкМ *транс*-зеатина) или в присутствии ЦК (1 мкМ *транс*-зеатин) спустя 16 ч освещения.

на восприятие и, возможно, передачу цитокининового сигнала и, что мутант *glk1glk2* чувствителен к экзогенному гормону подобно дикому типу.

Цитокинин регулирует экспрессию генов *транс*-факторов *GLK1* и *GLK2* в ходе деэтиоляции. Ранее Kobayashi и соавт. [10] в экспериментах по зеленению корней *A. thaliana* продемонстрировали цитокинин-зависимую индукцию гена *GLK2*. Избирательность анализа экспрессии только *GLK2* была основана на тканеспецифичности экспрессии генов семейства *GLKs*: для *GLK1* характерна экспрессия только в фотосинтетических тканях, в корнях же уровень транскрипции *GLK1* ниже уровня детекции, а экспрессия *GLK2* характерна как для зеленых, так и для нефотосинтезирующих тканей (корней) [3]. Однако остается неизвестным, индуцирует ли ЦК экспрессию гена *GLK1* и сохраняется ли цитокинин-зависимая регуляция гена *GLK2* в ходе деэтиоляции проростков *A. thaliana*. Располагая данными о том, что оба гена семейства *GLKs* экспрессируются в семядольных листьях [3], мы предположили, что *GLKs* могут

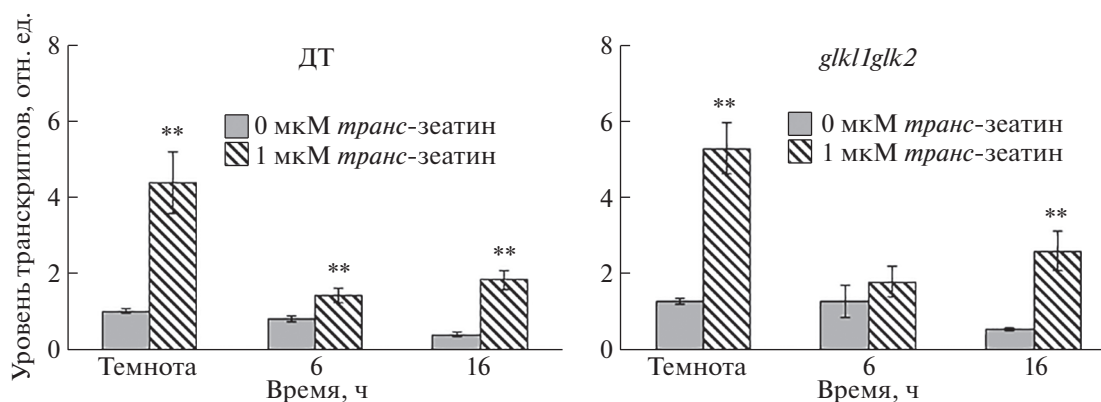


Рис. 2. Влияние цитокинина на содержание транскриптов гена *ARR5* в проростках дикого типа и нокаут-мутанта *glk1glk2 A. thaliana* в темноте и в ходе деэтиоляции. ** – достоверные различия между средними значениями экспрессии в проростках, выращенных на питательной среде без цитокинина vs. экспрессии в растениях, обработанных *транс*-зеатином при $p \leq 0.01$.

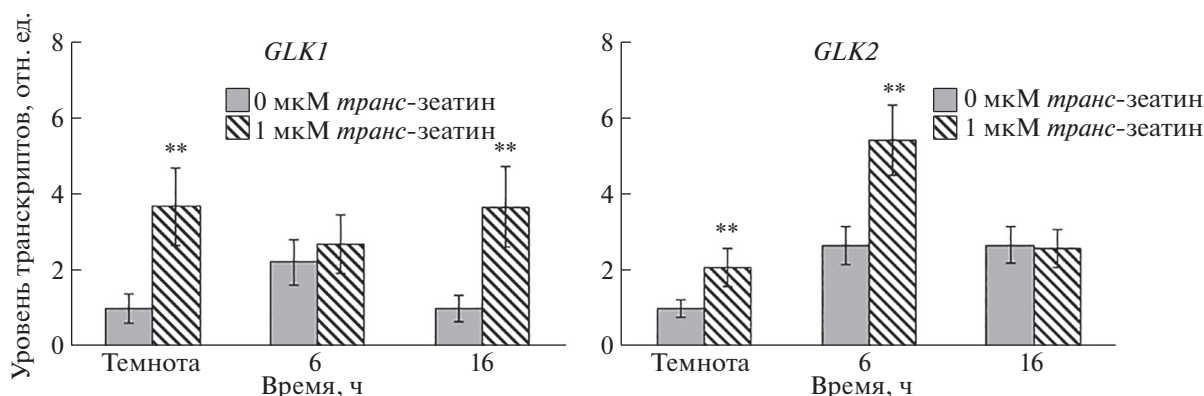


Рис. 3. Регуляция светом и цитокинином содержания транскриптов генов *GLK1* и *GLK2* в 4-дневных проростках дикого типа *A. thaliana* в ходе деэтиоляции. ** – достоверные различия между средними значениями экспрессии в проростках, выращенных на питательной среде без цитокинина vs. экспрессии в растениях, обработанных *транс*-зеатином при $p \leq 0.01$.

являться участниками цитокинин-зависимого регуляторного каскада экспрессии генов в ходе деэтиоляции.

Анализ содержания транскриптов генов *GLK1* и *GLK2* в проростках дикого типа *A. thaliana* показал светозависимое накопление матриц исследуемых генов (рис. 3). Такая индукция содержания транскриптов генов *GLKs* согласуется с данными Fitter и соавт. [3].

На фоне действия света ЦК увеличивал содержание транскриптов генов *GLK1* и *GLK2* как в условиях темноты, так и спустя 6 ч (*GLK2*) или 16 ч (*GLK1*) деэтиоляции (рис. 3). Этот результат позволяет предположить, что *транс*-факторы *GLK1* и *GLK2* могут принимать участие в цитокинин-зависимой регуляции экспрессии генов в ходе зеленения проростков *A. thaliana*.

Транс-факторы GLKs регулируют цитокинин-зависимую экспрессию гена *SCA3*, кодирующего пластидную РНК-полимеразу *RPOTp*.

Для того чтобы установить, участвуют ли белки семейства *GLKs* в регуляции экспрессии гена *SCA3* и *RPOTp*-зависимых пластидных генов, использовали двойной мутант *glk1glk2*.

Цитокинин-зависимая активация экспрессии генов *транс*-факторов *GLKs* позволила нам предположить участие данных факторов транскрипции в ЦК-зависимой активации экспрессии гена РНК-полимеразы *SCA3*. Ранее нами была продемонстрирована регуляция цитокинином уровня транскриптов гена *SCA3* в ходе зеленения *A. thaliana* [7], однако участники молекулярного каскада реализации данного позитивного эффекта до сих пор неизвестны.

Как показывают полученные результаты (рис. 4а), освещение этиолированных растений стимулировало увеличение уровня транскриптов гена *SCA3* как в проростках дикого типа, так и нокаут-мутанта *glk1glk2*, при этом отсутствие *транс*-факторов *GLKs* не изменяло ни профиль, ни уровень транскриптов в растениях *glk1glk2* (рис. 4а). В свою очередь, в отличие от дикого типа, обра-

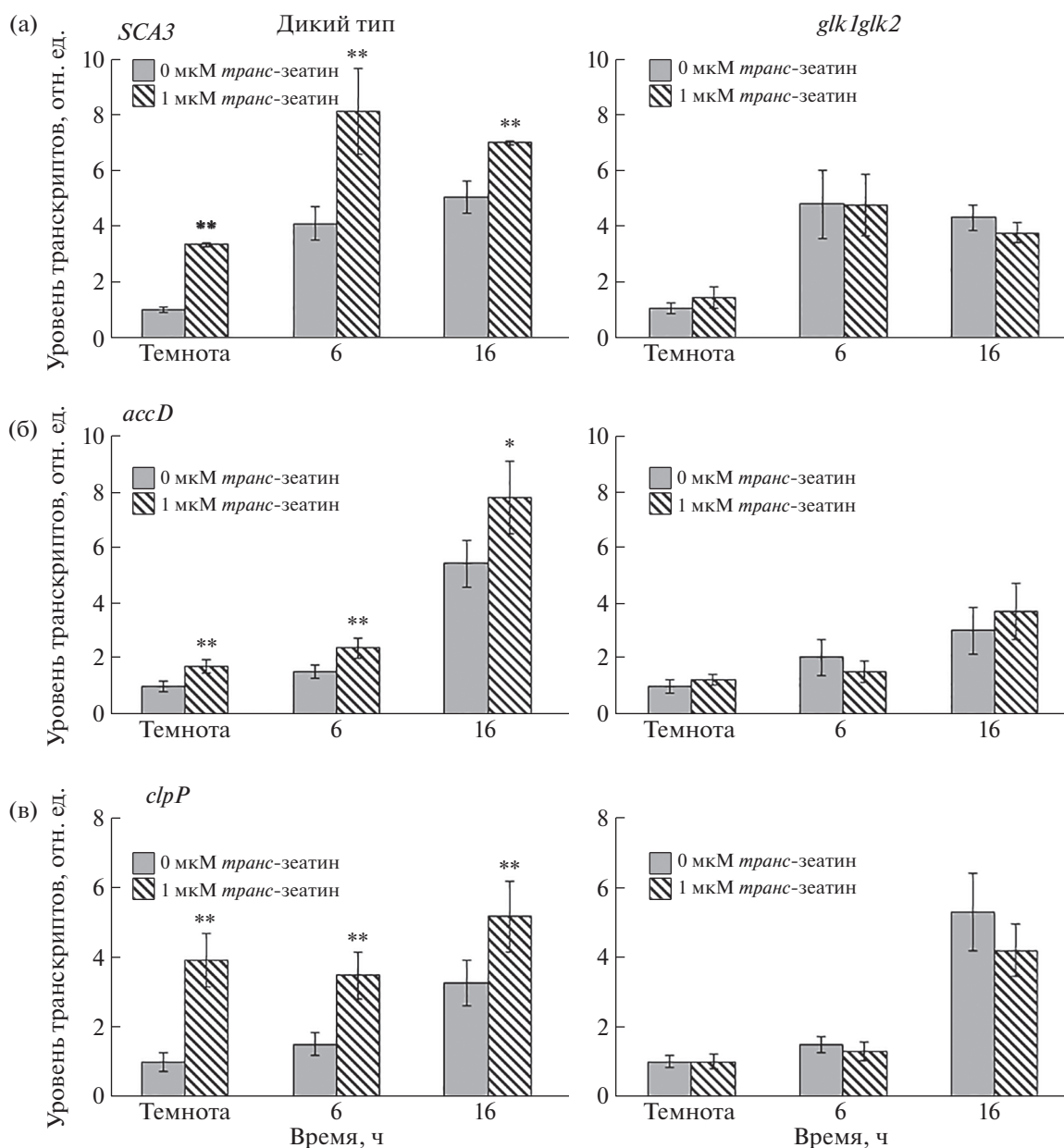


Рис. 4. Влияние света и цитокинина на уровень транскриптов ядерного гена *SCA3*, кодирующего хлоропластную РНК-полимеразу RPOTr (А), а также RPOTr-зависимых пластидных генов *accD* (Б) и *clpP* (В) в 4-дневных проростках *A. thaliana* дикого типа и нокаут-мутанта *glk1glk2* в условиях темноты и в ходе деэтиоляции * – достоверные различия между средними значениями экспрессии в проростках, выращенных на питательной среде без цитокинина vs. экспрессии в растениях, обработанных *транс*-зеатином при $p \leq 0.05$, ** при $p \leq 0.01$.

ботка *транс*-зеатином проростков *glk1glk2* не приводила к увеличению содержания матриц гена *SCA3*. Отсутствие реакции на ЦК указывает на возможное участие факторов транскрипции GLK1 и/или GLK2 в реализации позитивного эффекта ЦК на формирование хлоропласта в ходе деэтиоляции через активацию экспрессии гена РНК-полимеразы *SCA3*.

Транс-факторы GLKs опосредуют активацию цитокинином экспрессии RPOTr – зависимых пластидных генов *accD* и *clpP* в ходе деэтиоляции

A. thaliana. Дополнительным подтверждением участия *транс*-факторов GLKs в цитокинин-зависимой активации экспрессии гена *SCA3* явились результаты ПЦР-РВ по уровню транскриптов RPOTr – зависимых генов, а именно *accD* и *clpP* в ходе цитокинин-зависимой деэтиоляции мутанта *glk1glk2*. Оба гена относятся к генам “домашнего хозяйства”: *accD* кодирует β-субъединицу ацетил-СоА-карбоксилазы, участвующей в синтезе жирных кислот, *clpP* – каталитическую субъединицу протеазы Clp. Ген *accD* имеет только NEP-промотор, поэтому транскрипция этого ге-

на осуществляется NER-полимеразой. Промотор *clpP* содержит как NER, так и PER элементы, что позволяет транскрибировать этот ген как NER, так и PER-полимеразам, однако существуют данные о большем вкладе полимеразы NER в транскрипцию гена *clpP* [2].

Анализ показал, что освещение проростков как дикого типа, так и нокаут-мутанта приводит к увеличению содержания транскриптов генов *accD* и *clpP* (рис. 4 б, в). Значимые отличия между диким типом и *glk1glk2* наблюдались в динамике уровня мРНК генов *accD* и *clpP* в ответ на ЦК в ходе деэтиоляции: если в проростках материнской линии экзогенный ЦК увеличивал содержание транскриптов исследуемых генов во всех временных точках эксперимента, то инактивация генов факторов транскрипции GLKs у мутанта *glk1glk2* приводила к отсутствию цитокинин-зависимой регуляции (рис. 4 б, в).

Отсутствие позитивного эффекта ЦК на содержание транскриптов гена *SCA3* и двух RPOTr-зависимых генов *accD* и *clpP* у мутанта *glk1glk2* подтверждает участие *транс*-факторов GLK1 и/или GLK2 в реализации позитивного влияния ЦК на формирование хлоропласта путем контроля пластидной РНК-полимеразы ядерного кодирования.

Как известно, ЦК обладают широким спектром функциональной активности. Начальный путь передачи цитокинового сигнала включает цитоплазматические рецепторы AHKs (Arabidopsis Histidine Kinase), трансмиттеры AHPs (Arabidopsis Histidine phosphotransfer Proteins) и 11 *транс*-факторов ARR типа В (Arabidopsis Response Regulator) [13]. Несмотря на то что *транс*-факторы типа В имеют от 4 до 8 тысяч прямых сайтов связывания с промоторами ядерных генов [14], многочисленные транскриптомные исследования указывают на гораздо более обширный кластер цитокинин-регулируемых генов, что допускает вовлеченность в гормон-зависимую экспрессию *транс*-факторов более высокого порядка.

К их числу относятся три семейства *транс*-факторов GATA ядерной локализации: GNC (GATA Nitrate-inducible Carbon-metabolism-involved), GNL/CGA1 (GNC-Like/Cytokinin-responsive GATA factor 1) и GLKs (Golden two-Like) [2, 15]. Эти регуляторные белки опосредуют действие ЦК на хлоропласты, и, кроме того, экспрессия их генов позитивно регулируется ЦК [3, 16]. Помимо участия в ЦК-зависимой регуляции экспрессии ядерных генов, GNC и GLKs контролируют биогенез и деление хлоропластов, однако молекулярный механизм такого воздействия различается. Фактор GNC подавляет транскрипцию генов негативных регуляторов фотоморфогенеза *PIFs*, а также генов, кодирующих ферменты био-

синтеза и *транс*-факторов брассиностероидов, тем самым иницируя фотоморфогенез. Напротив, GLKs являются активаторами транскрипции генов, кодирующих белки светособирающих комплексов и ферменты биосинтеза хлорофилла. Полученные нами результаты впервые показали участие факторов транскрипции GLKs в цитокинин-зависимой активации экспрессии гена *SCA3*, что значительно углубляет понимание механизмов регуляции биогенеза хлоропластов *транс*-факторами GLKs.

Еще одним свето- и цитокинин-зависимым регулятором биогенеза хлоропластов является *транс*-фактор HY5. В исследованиях по зеленению корней *A. thaliana* Kobayashi и соавт. [10] показали взаимозависимость в действии факторов HY5 и GLKs. Это подтверждается тем, что экспрессия обоих генов подавляется ауксином и активируются ЦК, оверэкспрессия генов GLK1 и GLK2 приводит к увеличению уровня белка HY5 и белка светособирающего комплекса LHCP. Скрещивание мутанта *hy5-215* с растением оверэкспрессирующим *GLK1_{ox}* или *GLK2_{ox}* в некоторой степени компенсирует бледно-зеленый фенотип *hy5-215*, хотя не восстанавливает его полностью, из чего следует, что для функционирования *транс*-факторов GLKs необходим функционально-активный HY5. Кроме того, ранее мы показали [17], что цитокинин-зависимая экспрессия гена *SCA3* в ходе деэтиоляции опосредована *транс*-фактором HY5, а в данной работе показана зависимость экспрессии гена *RPOTr* от факторов GLKs. По-видимому, белки GLKs и HY5 являются элементами одного транскрипционного каскада регуляции экспрессии гена *SCA3*, кодирующей РНК-полимеразу RPOTr пластид, в ходе цитокинин-зависимой деэтиоляции.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 19-34-90183 и 20-04-00294), а также Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121040800153-1).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kusnetsov V.V., Doroshenko A.S., Kudryakova N.V., et al. Role of Phytohormones and light in de-etiolation. // Russian Journal of Plant Physiology. 2020. V. 67. P. 971–984.

2. Börner T., Aleynikova A., Zubo Y., et al. Chloroplast RNA polymerases: Role in chloroplast biogenesis // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2015. V. 1847. P. 761–769.
3. Fitter D., Martin D., Copley M., et al. GLK gene pairs regulate chloroplast development in diverse plant species // *Plant J*. 2002. V. 31. P. 713–727.
4. Zubo Y., Blakley I., Franco-Zorrilla J., et al. Coordination of chloroplast development through the action of the GNC and GLK transcription factor families // *Plant Physiol*. 2018. V. 178. P. 130–147.
5. Cortleven A., Schmölling Th. Regulation of chloroplast development and function by cytokinin // *Journal of Experimental Botany*. 2015. V. 66. P. 4999–5013
6. Cortleven A., Marg I., Yamburenko M., et al. Cytokinin regulates the etioplast-chloroplast transition through the two-component signaling system and activation of chloroplast-related genes // *Plant Physiol*. 2016. V. 172. P. 464–478.
7. Danilova M., Doroshenko A., Kudryakova N., et al. Plastome Transcription Machinery and Peculiarities of the Expression of Its Genes during Cytokinin-Dependent Deetiolation of *Arabidopsis thaliana* // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2018. V. 65. P. 801–812.
8. Vandenbussche F., Habricot Y., Condiff A., et al. HY5 is a point of convergence between cryptochrome and cytokinin signaling pathways in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J*. 2007. V. 49. P. 428–441.
9. Doroshenko A., Danilova M., Medvedeva A., et al. Influence of blue-light signaling components on the regulation of cytokinin-dependent *Arabidopsis thaliana* seedlings' greening // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019. V. 66. P. 864–871.
10. Kobayashi K., Baba S., Obayashi T., et al. Regulation of root greening by light and auxin/cytokinin signaling in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2012. V. 24. P. 1081–1095.
11. Chory J., Reinecke D., Sim S., et al. A role for cytokinins in de-etiolation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 1994; 104: 339–347. <https://doi.org/10.1104/pp.104.2.339>
12. D'Agostino I., Deruère J., Kieber J. Characterization of the response of the *Arabidopsis* response regulator gene family to cytokinin // *Plant Physiol*. 2000. V. 124. P. 1706–17.
13. Kieber J.J., Schaller G.E. Cytokinin signaling in plant development // *Development*. 2018. V. 145. P. dev149344.
14. Xie M., Chen H., Huang L., et al. A B-ARR-mediated cytokinin transcriptional network directs hormone cross-regulation and shoot development // *Nature Communications*. 2018. V. 9 P. 1604.
15. Waters M.T., Wang P., Korkaric M., et al. GLK transcription factors coordinate expression of the photosynthetic apparatus in *Arabidopsis* // *The Plant Cell*. 2009. V. 21. P. 1109–1128.
16. Chiang Y., Zubo Y., Tapken W., et al. Functional characterization of the GATA transcription factors GNC and CGA1 reveals their key role in chloroplast development, growth, and division in *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. 2012. V. 160. P. 332–348.
17. Дорошенко А.С., Данилова М.Н. Участие компонентов сигналинга синего света в регуляции экспрессии генов аппарата транскрипции пластома при цитокинин-зависимой деэтиляции *A. thaliana* // Сборник материалов Годичного собрания Общества физиологов растений России “Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды”, Иркутск, 10–15 июля 2018 г. – Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018. – Часть II. – стр. 908–912.

TRANSCRIPTION FACTORS OF THE GLRS FAMILY ARE INVOLVED IN CYTOKININ-DEPENDENT REGULATION OF PLASTID RNA POLYMERASE *SCA3* GENE EXPRESSION DURING DEETIOLATION OF *ARABIDOPSIS THALIANA*

A. S. Doroshenko^{a,#}, A. M. Malyukova^{a,b}, M. N. Danilova^a,
Corresponding Member of the RAS V. V. Kuznetsov^a, and V. V. Kusnetsov^a

^a K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

[#]e-mail: anastasiya04101993@gmail.com

Light-dependent transcription factors GLKs of *Arabidopsis thaliana* are involved in the anterograde regulation of chloroplast biogenesis during deetiolation: they regulate the expression of photosynthetic nuclear-encoded genes and also mediate the transcription of plastid genes. Chloroplast biogenesis is determined at the same time by light and by endogenous factors – the phytohormones, among which cytokinins significantly accelerate the formation of photosynthetically active chloroplasts. In the current work it was shown that GLKs trans-factors operate as cytokinin-dependent regulators, mediating the positive cytokinin effect on plastome expression through the activation of transcription of the *SCA3* nuclear gene encoding the plastid RNA polymerase RPO_{TP}.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, deetiolation, cytokinins, transcription factors, gene expression, chloroplast biogenesis