

УДК 575.113/117:631.547.4:633.11:324:633.16:324

МОДЕЛЬ ГЕННОЙ СЕТИ РЕГУЛЯЦИИ ВРЕМЕНИ ЦВЕТЕНИЯ У ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ

© 2012 г. И.Л. Степаненко, О.Г. Смирнова, И.И. Титов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: stepan@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 1 февраля 2012 г. Принята к публикации 8 февраля 2012 г.

Переход от вегетативной к репродуктивной стадии развития растений зависит от фотопериода и яровизации. Предложена простая логическая модель генной сети, регулирующей время цветения озимой пшеницы. У озимых сортов злаков чувствительность к яровизации контролируется генами *VRN1*, *VRN2* и *VRN3*. После яровизации продукт гена *VRN1* подавляет ген *VRN2*, кодирующий репрессор цветения. В результате уровень экспрессии *VRN3* возрастает и стимулирует дальнейшее увеличение уровня транскрипции гена *VRN1*. Гены образуют петлю с положительной обратной связью, что усиливает транскрипцию *VRN1* до уровня, необходимого для инициации цветения. В условиях длинного дня экспрессию *VRN3* усиливают продукты генов *PPD1* и *CO2*, определяющие чувствительность к фотопериоду. Сезонные изменения длины дня через фоторецепторы передаются циркадным часам, которые модулируют время цветения. Данные о генах ячменя и пшеницы, контролирующих чувствительность к яровизации и фотопериоду, интегрированы в генную сеть. С помощью синхронной булевой модели воспроизведена динамика генной сети. Расширенная модель генной сети может быть использована для проверки согласованности экспериментальных данных и выдвижения новых гипотез о взаимодействии генов.

Ключевые слова: пшеница, ячмень, *VRN1*, *VRN2*, *VRN3*, яровизация, фотопериод, длина дня, циркадный ритм, цветение, генная сеть, синхронная булева модель.

Введение

Яровизация – длительная экспозиция на холоде, необходима для перехода растений озимой пшеницы от вегетативной к репродуктивной стадии развития. Реакция растений на данное воздействие регулируется генами *VRN1*, *VRN2* и *VRN3* (*VERNALIZATION*). Ген *VRN1* кодирует MADS-бок транскрипционный фактор. Локус *VRN2* содержит 2 tandemно дублированных гена, кодирующих подавляющий цветение фактор ZCCT, а *VRN3* кодирует белок, схожий с ингибиторами Raf-киназ (Yan *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2004; Yan *et al.*, 2006). Гены *VRN* регулируют не только чувствительность к яровизации, но и время цветения на длинном дне (Trevaskis *et al.*, 2007). Для изучения процесса адаптации к сезонным изменениям, влияющим на время цветения у пшеницы, как модельный объект используют *Arabidopsis thaliana*. *VRN1* является гомологом

гена *API* (*APENTALA 1*) *A. thaliana*, ген *VRN3* – гомологом гена *FT* (*FLOWERING LOCUS T*) *A. thaliana* (Yan *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2004; Yan *et al.*, 2006). Ген *VRN2* не имеет гомологов у *A. thaliana*, но подавляет цветение аналогично гену *FLC* (*FLOWERING LOCUS C*) *A. thaliana*. Несмотря на то что ответ на яровизацию контролируется у злаков и *A. thaliana* различными генами, механизмы регуляции времени цветения у них весьма консервативны (Greenup *et al.*, 2009). Филогенетический анализ выявил гомологичные гены у пшеницы, ячменя, овса, риса, *A. thaliana* и *Brachypodium distachyon*, дикорастущей травы, которую в настоящее время также используют как модель для изучения регуляции времени цветения у злаковых (Higgins *et al.*, 2010).

Генные сети (группы координированно функционирующих генов) включают регуляторные сети, пути передачи сигналов, метаболические

сети (Ananko *et al.*, 2005; Papin *et al.*, 2005). Компьютерные технологии реконструкции и анализа генных сетей на базе экспериментальных данных применяют для изучения механизмов развития и функционирования различных организмов. Системный подход при реконструкции генных сетей позволяет применять математические методы для их анализа и построения моделей (Papin *et al.*, 2005). В нашей работе из большого числа существующих динамических моделей генных сетей мы используем простейшую – синхронную булеву сеть (Kaufmann *et al.*, 2004), которая с успехом используется уже более 40 лет. При математическом анализе динамики генных сетей особое значение имеет вычисление стационарных состояний. Каждое стационарное состояние соответствует своему режиму функционирования сети. Стационарные состояния генных регуляторных сетей были использованы для описания морфогенеза *A. thaliana* (Mendoza *et al.*, 1999) и могут иметь практическое применение в патофизиологии и генной инженерии.

В данной работе на основании современных экспериментальных данных реконструирована генная сеть регуляции времени цветения у злаков в зависимости от сезонных изменений. Рассмотрены некоторые модели регуляции времени цветения у озимой формы ячменя *Hordeum vulgare*, яровой формы диплоидной пшеницы *Triticum monococcum* и озимой гексаплоидной пшеницы *Triticum aestivum*, созданные на основе реконструкции генной сети.

Материалы и методы

Для расчета динамики генной сети регуляции времени цветения была использована синхронная булева модель (Mendoza *et al.*, 1999; Kaufmann *et al.*, 2004). Узлам графа было присвоено бинарное значение 1 или 0 в зависимости от того, активен или нет соответствующий ген. Тогда состояние сети в каждый момент времени описывается вектором, компоненты которого характеризуют состояния отдельных узлов.

Взаимодействия между генами представлены направленными связями между узлами. Состояние любого узла в момент времени $t + 1$ определяется состояниями узлов, которые действуют на этот узел в момент времени t .

Если в момент времени t на узел поступает хотя бы один ингибирующий сигнал из входящих взаимодействий, в момент времени $t + 1$ его состояние равно 0. Если в момент времени t на узел не поступает ингибирующих сигналов, в момент времени $t + 1$ его состояние равно 1.

Расчет динамики сети состоял из последовательного анализа ее состояний в следующем порядке. Задается вектор состояний сети. Для каждого узла рассматриваются входящие сигналы и обновляется его состояние в соответствии с логическими правилами, которые описаны выше. В результате получаем новый вектор состояний. Если текущий вектор совпадает с предыдущим, то мы нашли неподвижную точку (стационарное состояние) в динамическом портрете нашей генной сети.

Для сети из N узлов мы перебираем все 2^N состояний сети и строим полный фазовый портрет, т. е. глобальную картину динамики сети для любых начальных условий. Очевидно, что при описании простой модели не учитывались различия как в силах взаимодействий, так и в их временных шкалах, однако такая модель оказалась полезной при анализе целого ряда генных сетей.

Для внешних факторов значения 1 и 0 были присвоены следующим образом: для длинного дня – 1, для короткого дня – 0, для дня – 1, для ночи – 0, для холода – 1, для тепла – 0. Этот принцип был использован и в других булевых моделях (Mendoza *et al.*, 1999; Davidich *et al.*, 2008).

Генные сети построены на основании опубликованных экспериментальных данных (Zhao *et al.*, 2005; Kane *et al.*, 2007; Li, Dubcovsky, 2008; Shimada *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2011), для визуализации был использован пакет Pajek (<http://pajek.imfm.si/doku.php?id=pajek>).

Результаты и обсуждение

Транскрипционный фактор VRN1 является ключевым регулятором, который индуцируется при яровизации и ускоряет переход к репродуктивной стадии развития растений. Пшеница – растение длинного дня. Озимые сорта пшеницы высевают осенью, они яровизируются при низкой температуре и коротком дне зимой и зацветают весной при длинном дне. Осенью цветению пшеницы препятствует

репрессор цветения *VRN2*, который подавляет транскрипцию гена *VRN3*. Яровизация индуцирует экспрессию гена *VRN1*, кодирующего MADS-бокс транскрипционный фактор *VRN1*. *VRN1* является репрессором гена *VRN2*, продукт которого репрессирует *VRN3*. В результате возрастание экспрессии гена *VRN1* увеличивает уровень *VRN3*. Весной, при длинном дне, *VRN3* усиливает транскрипцию *VRN1*, что инициирует цветение (Trevaskis *et al.*, 2007).

Мы рассмотрели логическую модель сети, состоящей из регуляторного контура генов *VRN2*-*VRN3*-*VRN1* и внешних факторов – длительной экспозиции на холоде и длины дня (табл. 1).

Всего возможны $2^5 = 1024$ состояния этой сети: 00000, 00001, ..., 11111. Было проведено компьютерное моделирование динамики сети регуляции времени цветения. После старта из начального состояния, соответствующего осени, 00100, сеть проходит через состояние «зима», 11001, и оказывается в состоянии 01011. Это состояние активности генов *VRN1* и *VRN3* соответствует весне и репродуктивной фазе развития растений – цветению, и является единственным стационарным состоянием сети.

Ответ на яровизацию хорошо изучен на таком диплоидном злаке, как ячмень (*H. vulgare*). При яровизации изменяется состояние хроматина гена *VRN1*, что приводит к значительному усилению уровня транскрипции этого гена (Oliver *et al.*, 2009). У ячменя подавление транскрипции *VRN1* до яровизации связано с высоким уровнем метилирования гистона 3 по лизину 27.

Помимо *VRN2*, в ответе на яровизацию у злаковых участвует и другой репрессор цветения, ген *ODDSOC2* (*OS2*), кодирующий транскрипционный фактор MADS-бокс (Greenup *et al.*, 2010). На рис. 1 представлена генная сеть

регуляции времени цветения у ячменя, которая включает гены *VRN1*, *OS2* и *FPF1* и два пути регуляции. В графе генной сети присутствуют два входа внешних сигналов: холод, вызывающий яровизацию, и длина дня. На выходе генной сети – цветение. Ген *OS2* ячменя экспрессируется в листьях и меристеме. Трансгенные растения ячменя со сверхэкспрессией гена *OS2* имеют меньшую высоту и длину листьев (Greenup *et al.*, 2010). Экспрессия *OS2* подавляет транскрипцию гена *FPF1*, гомологичного гену *FPF1* (*FLOWERING PROMOTING FACTOR1*) *A. thaliana*. Холод и активация транскрипции *VRN1* приводят к подавлению экспрессии *OS2* и, как следствие, дерепрессии *FPF1*, экспрессия которого, в свою очередь, ускоряет цветение и усиливает элонгацию клеток. Кроме того, *VRN1* подавляет транскрипцию *VRN2* (*ZCCTb*), что приводит к активации *VRN3* (Trevaskis *et al.*, 2007), дальнейшему усилению экспрессии генов *FPF1* и переходу к репродуктивной стадии развития растений. *VRN1* ингибирует *OS2* и объединяет два пути регуляции времени цветения (рис. 1).

По данным анализа транскрипции генов ячменя с помощью микрочипов, после длительной обработки холодом (49 дней при 4 °C) в листьях яровизированных растений изменялся уровень экспрессии 14 генов, при этом экспрессия 6 генов возрастала, а 8 – снижалась (Greenup *et al.*, 2011). Среди генов, чувствительных к длительному воздействию холодом, были *VRN1* и *OS2*, а также жасмонат-индуцируемый ген, кодирующий белок (JIP; 23кД), участвующий в синтезе полисахаридов клеточной стенки; ген, кодирующий кальций-связывающий белок (CaBP); ген, кодирующий белок, сходный с РНКазой S (RNaseS); и ген, кодирующий секреторный белок PR17d (рис. 1).

Таблица 1

Экспрессия генов *VRN* озимой пшеницы в зависимости от яровизации и длины дня

Сезон года	Холод	Длинный день	<i>VRN2</i>	<i>VRN3</i>	<i>VRN1</i>	Состояние сети	Цветение
Осень	0	1	1	0	0	01100	0
Зима	1	0	0	0	1	10001	0
Весна	0	1	0	1	1	01011	1

Примечание. Длинный день – 1, короткий день – 0, отсутствие холода – 0. Ген имеет значение 1, когда экспрессируется на высоком уровне, и 0 – когда неактивен.

Экспрессия *VRN1* у ячменя зависит от яровизации и стадии развития растений, но не от длины дня (Trevaskis *et al.*, 2006). Гены *ZCCTa* и *ZCCTb* локуса *VRN2* активны только на длинном дне (16 ч освещения/8 ч темноты) и осенью подавляют цветение растений, не подвергнувшихся яровизации (Trevaskis *et al.*, 2006). После яровизации на длинном дне *VRN1* индуцируется, а экспрессия *ZCCTb* ингибируется (рис. 1).

Кроме того, у ячменя *VRN2* подавляет экспрессию гена *PPD2* (*PHOTOPERIOD 2*), влияющего на время цветения в условиях короткого дня. У сортов ячменя с делециями локуса *VRN2* экспрессия *PPD2* наблюдается и на длинном дне, но на более низком уровне, чем на коротком дне (Casao *et al.*, 2011). Яровые сорта ячменя, несущие доминантный ген фотопериода *PPD1*, зацветают при длинном дне, при этом происходит активация транскрипции *VRN3* (Hemming *et al.*, 2008) через транскрипционный фактор *CO* (*CONSTANS*) (Turner *et al.*, 2005).

На основании экспериментальных данных (Zhao *et al.*, 2005; Kane *et al.*, 2007; Li, Dubcovsky, 2008; Shimada *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2011), полученных на озимой форме гексаплоидной пшеницы *T. aestivum* и яровой форме диплоидной пшеницы *T. monococcum*, реконструирована генная сеть регуляции времени цветения в зависимости от продолжительного действия холода и длины дня (рис. 2). *MADS-box* транскрипционный фактор озимой пшеницы *VRT2* (*VEGETATIVE TO REPRODUCTIVE TRANSITION 2*) связан с процессом яровизации, он действует как репрессор гена *VRN1* (Kane *et al.*, 2007). При длинном дне у неяровизированных растений экспрессия *VRT2* усиливается, яровизация ингибирует *VRT2*. Экспрессия *VRN3* (*FT*) усиливается на длинном дне. Белок *VRN3* (названный флоригеном) движется из листьев в апикальную меристему и ускоряет цветение у различных видов растений (Corbesier *et al.*, 2007). У пшеницы *VRN3* в меристеме взаимодействует с *bZIP*-белком *FDL2* (*FD-like*), который непосредственно связывается с промотором гена *VRN1*, активируя его транскрипцию (Li, Dubcovsky, 2008). Экспрессия *VRN3* приводит к дальнейшему увеличению уровня транскрипции *VRN1*, таким образом, образуется петля с положительной обратной

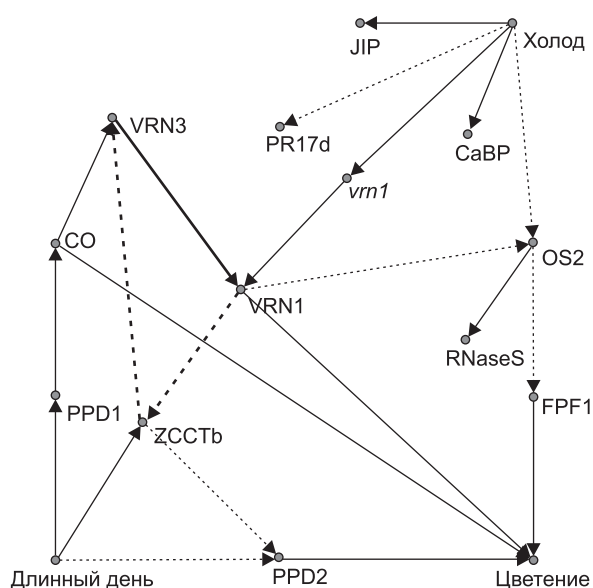


Рис. 1. Генная сеть регуляции времени цветения у ячменя.

Сплошные стрелки обозначают активацию, пунктирные – ингибирование гена. В генной сети выявлен один контур с положительной обратной связью *VRN1*-*ZCCTb*-*VRN3*-*VRN1*. *VRN* – *VERNALIZATION*; *vrn1* – рецессивный аллель гена *VRN1*; *ZCCTb* – *VRN2*; *PPD* – *PHOTOPERIOD*; *CO* – *CONSTANS*; *JIP* – 23 kD *JASMONATE INDUCED PROTEIN*; *CaBP* – *CALCIUM BINDING EF HAND PROTEIN*; *PR17d* – *SECRETORY PROTEIN*; *RNaseS* – *RNaseS-like*; *OS2* – *MADS-BOX GENE*; *FPF1* – *FLOWERING PROMOTING FACTOR 1*.

связью, что усиливает транскрипцию *VRN1* до уровня, необходимого для инициации цветения (Distelfeld *et al.*, 2009).

Ген *VRN3* функционирует как интегратор сигнальных путей в ответ на яровизацию и фотопериод у злаковых (Yan *et al.*, 2006; Hemming *et al.*, 2008). Консервативное семейство белков *NF-Y* индуцируется в ответ на засуху и осмотический стресс (Stephenson *et al.*, 2007). Взаимодействие между белками, имеющими *ССТ* домены (*CO*, *CO-like* and *TIMING OF CAB1 EXPRESSION1*), и транскрипционными факторами *NF-Y/HAP* (*NUCLEAR FACTOR-Y*) играет важную роль в интеграции путей передачи сигналов при яровизации и изменении длины дня (Li *et al.*, 2011). *ССТ*-белками являются *ZCCT1* и *ZCCT2*, гены которых расположены в локусе *VRN2*, и *CO2*, которые взаимодействуют с одним семейством *NF-Y*-белков (рис. 2). Гены *PPD1* и *CO2*, участвующие в ответе на фотопериод, усиливают экспрессию *VRN3* при

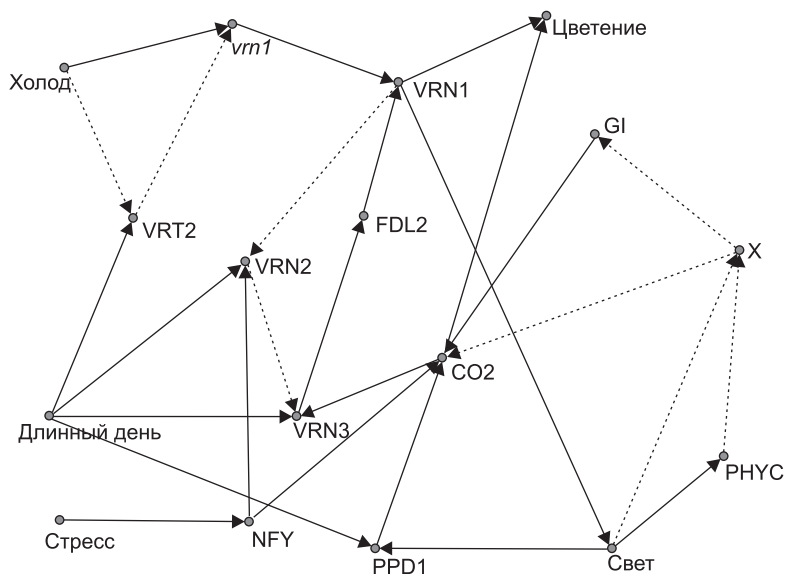


Рис. 2. Генная сеть регуляции времени цветения пшеницы в зависимости от яровизации, фотопериода, стресса и циркадного ритма.

Сплошные стрелки обозначают активацию, пунктирные – ингибирование гена. VRN – VERNALIZATION; *vrn1* – рецессивный аллель гена VRN1; VRT2 – VEGETATIVE TO REPRODUCTIVE TRANSITION 2; FDL2 – FD-like 2, PPD1 – PHOTOPERIOD 1; PHYC – PHYTOCHROME C; NF-Y – NUCLEAR FACTOR-Y; CO2 – CONSTANS 2; GI – GIGANTEA; X – гипотетический белок.

длинном дне, тогда как *VRN2* является репрессором цветения (Turner *et al.*, 2005). Регуляция цветения происходит в результате конкуренции репрессора цветения *VRN2* (*ZCCT1*) и активатора CO2 за взаимодействие с NF-Y комплексом (Li *et al.*, 2011).

Сигнал о сезонных изменениях длины дня, получаемый через фоторецепторы, передается циркадным часам, которые также регулируют время цветения (Imaizumi, 2010). У *A. thaliana* фактор GI (*GIGANTEA*) активирует транскрипцию гена *TOC1*, тогда как *TOC1* ингибирует транскрипцию гена *GI*. Регуляторы циркадного ритма *TOC1*, *PRR5*, *PRR7*, *PRR9*, *CCA1* и *LHY* образуют контур с отрицательными обратными связями, определяющий осцилляцию экспрессии генов. GI активирует транскрипцию гена *CO* в составе белкового комплекса (Sawa *et al.*, 2007). Выявлен ген пшеницы, который является ортологом гена *GIA. thaliana* (Zhao *et al.*, 2005). CO является позитивным регулятором цветения при длинном дне, активируя транскрипцию гена *FT* (*VRN3*), запускающего цветение (Tiwarī *et al.*, 2010). COP1 (*CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENESIS 1*)

является ключевым регулятором фотоморфогенеза растений (Smirnova *et al.*, 2011). В темноте COP1 способствует деградации светорегулируемых транскрипционных факторов и подавляет экспрессию генов фотоморфогенеза. У *A. thaliana* COP1 обеспечивает протеолиз ELF3, GI и CO в темноте (Yu *et al.*, 2008). ELF3 действует как белковый адаптер, способствуя взаимодействию COP1 с GI. Механизмы регуляции циркадного ритма консервативны у многих видов растений (Song *et al.*, 2010). Поскольку COP1 является очень консервативным белком, можно предположить участие E3-убиквитинлигазы в регуляции циркадного ритма у пшеницы (рис. 2). На схеме генной сети предполагаемый нами гипотетический белок обозначен символом X. Этот белок может иметь активность убиквитинлигазы. Белок X подавляет экспрессию GI ночью, в отсутствие света, формируя циркадный ритм.

На проростках ярового сорта диплоидной пшеницы *T. monosocum* была изучена динамика экспрессии генов *GI*, *CO1*, *VRN3* (*FT*) и *VRN1* в зависимости от фотопериода и суточного ритма (Shimada *et al.*, 2009). Была

предложена альтернативная модель регуляции контура $VRN3 \rightarrow VRN2 \rightarrow VRN1 \rightarrow VRN3$, в которой $VRN3$ является репрессором $VRN2$ и активируется на длинном дне через путь передачи светового сигнала $PPD1 \rightarrow GI \rightarrow CO$ (Shimada *et al.*, 2009). Модель была построена при изучении мутантных линий пшеницы *mvr* (*maintained vegetative phase*), несущих мутацию гена $VRN1$. В дальнейшем было показано, что эти линии несут большие делеции, включающие гены *AGL1*, *CYS*, *PHYC* и $VRN1$ (Distelfeld, Dubcovsky, 2010). Авторы этой статьи предполагают, что поскольку экспрессия $VRN2$ и FT регулируется светом, снижение экспрессии $VRN2$ у мутантов *mvr* может быть связано с делецией гена *PHYC*, кодирующего фоторецептор фитохром С, поэтому пока нет оснований предлагать альтернативную модель регуляции цветения генами VRN .

Экспрессия генов GI , $CO1$, $VRN3$ (FT) и $VRN1$ регулировалась циркадным 24-часовым ритмом. Максимальная экспрессия $VRN1$ наблюдалась утром. Суточный ритм $VRN1$ не зависел от длины дня, тогда как $VRN3$ не экспрессировался в условиях короткого дня (10 ч освещения/14 ч темноты). В условиях длинного дня (16 ч освещения/8 ч темноты) пик экспрессии $VRN3$ наблюдался днем. Максимальная экспрессия мРНК $CO1$ наблюдалась ночью и не зависела от длины дня. В табл. 2 данные по экспрессии генов, полученные в эксперименте Shimada с соавт. (2009), представлены в бинарном виде.

Данные, представленные в табл. 2, согласуются с динамикой экспрессии генов циркадного ритма, рассчитанной нами на основании экспериментальных данных и архитектуры генной сети (табл. 3). Исключение составил лишь

Таблица 2

Изменения экспрессии генов яровой пшеницы, несущих доминантный аллель гена $PPD1$, в зависимости от длины дня и суточного ритма (по данным Shimada *et al.*, 2009)

Длина дня	Время суток	$CO1$	GI	$VRN1$	FT ($VRN3$)
Короткий	ночь	1	0	0	0
Короткий	день	0	1	1	0
Длинный	ночь	1	0	0	0
Длинный	день	0	1	1	1

Примечание. Ген имеет значение 1, когда экспрессируется на высоком уровне и 0, когда неактивен.

паттерн циркадного ритма гена $CO1$, на который, как показано (Shimada *et al.*, 2009), влияла мутация гена $PPD1$. На коротком дне у растений яровой пшеницы с мутантным аллелем $ppd1$ пик активности гена $CO1$ наблюдался вечером. Возможно, сдвиг во времени суточного ритма $CO2$ относительно $CO1$ связан с его регуляцией GI и белком X , который экспрессируется в темноте и ингибирует гены CO и GI .

В норме $PPD1$ принимает опосредованное участие в активации $VRN3$ в ответ на длину дня. Возможно, это определяет отсутствие экспрессии гена $VRN3$ на коротком дне как у яровой, так и озимой пшеницы. Экспрессия $VRN3$ в условиях длинного дня и в дневное время суток определяется активными генами $PPD1$ и $VRN1$, таким образом, у озимой пшеницы транскрипционный фактор $VRN1$ является ключевым регулятором времени цветения.

В данной работе мы интегрировали в генную сеть данные по генам, контролирующим чувствительность к яровизации и фотопериоду.

Таблица 3

Циркадные изменения экспрессии генов озимой пшеницы, рассчитанные на основании топологии генной сети регуляции времени цветения у озимой пшеницы

Длина дня	Время суток	$PPD1$	$CO2$	GI	X	$VRN1$	$VRN3$	$VRN2$
Короткий	ночь	0	0	0	1	0	0	0
Короткий	день	0	1	1	0	1	0	0
Длинный	ночь	0	0	0	1	0	0	1
Длинный	день	1	1	1	0	1	1	0

Примечание. Ген имеет значение 1, когда экспрессируется на высоком уровне и 0, когда неактивен.

Предложена простая логическая модель генной сети, регулирующей время цветения озимой пшеницы. С использованием синхронной булевой модели воспроизведена динамика генной сети и выявлено ее стационарное состояние. Модель регуляции времени цветения в зависимости от циркадного ритма включает гипотетический белок, не выявленный у пшеницы, предположительно гомологичный COP1 *A. thaliana*. Расширенная модель генной сети может быть использована для проверки согласованности экспериментальных данных и выдвижения новых гипотез о взаимодействии генов.

Благодарности

Работа частично поддержана: Госконтрактом № 07.514.11.4023 Минобрнауки РФ «Проектирование и разработка RESTful-веб-сервисов для создания распределенной инфраструктуры, ориентированной на решения задач реконструкции и анализа генных сетей»; грантом Минобрнауки РФ в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 гг.» (07.514.11.4052); интеграционным проектом СО РАН; программой РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

Литература

Ananko E.A., Podkolodny N.L., Stepanenko I.L. *et al.* GeneNet in 2005 // Nucl. Acids Res. 2005. V. 33. D425–427.
 Casao M.C., Igartua E., Karsai I. *et al.* Expression analysis of vernalization and day-length response genes in barley (*Hordeum vulgare* L.) indicates that VRNH2 is a repressor of PPDH2 (HvFT3) under long days // J. Exp. Bot. 2011. V. 62. P. 1939–1949.
 Corbesier L., Vincent C., Jang S.H. *et al.* FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis* // Sci. 2007. V. 316. P. 1030–1033.
 Davidich M., Bornholdt S. Boolean network model predicts cell cycle sequence of fission yeast // PLoS ONE. 2008. V. 3. P. e1672.
 Distelfeld A., Li C., Dubcovsky J. Regulation of flowering in temperate cereals // Curr. Opin. Plant Biol. 2009. V. 12. P. 178–184.
 Distelfeld A., Dubcovsky J. Characterization of the maintained vegetative phase deletions from diploid wheat and their effect on VRN2 and FT transcript levels // Mol. Genet. Genomics. 2010. V. 283. P. 223–232.
 Greenup A., Peacock W.J., Dennis E.S., Trevaskis B. The molecular biology of seasonal flowering-responses in

Arabidopsis and the cereals // Ann. Bot. 2009. V. 103. P. 1165–1172.
 Greenup A.G., Sasani S., Oliver S.N. *et al.* ODDSOC2 is a MADS box floral repressor that is down-regulated by vernalization in temperate cereals // Plant Physiol. 2010. V. 153. P. 1062–1073.
 Greenup A.G., Sasani S., Oliver S.N. *et al.* Transcriptome analysis of the vernalization response in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings // PLoS One. 2011. V. 6. P. e17900.
 Hemming M.N., Peacock W.J., Dennis, E.S., Trevaskis B. Low-temperature and daylength cues are integrated to regulate *FLOWERING LOCUS T* in barley // Plant Physiol. 2008. V. 147. P. 355–366.
 Higgins J.A., Bailey P.C., Laurie D.A. Comparative genomics of flowering time pathways using *Brachypodium distachyon* as a model for the temperate grasses // PLoS One. 2010. V. 19. P. e10065.
 Imaizumi T. Arabidopsis circadian clock and photoperiodism: Time to think about location // Curr. Opin. Plant Biol. 2010. V. 13. P. 83–89.
 Kauffman S., Peterson C., Samuelsson B. *et al.* Genetic networks with canalizing Boolean rules are always stable // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 17102–17107.
 Kane N.A., Agharbaoui Z., Diallo A.O. *et al.* TaVRT2 represses transcription of the wheat vernalization gene *TaVRN1* // Plant J. 2007. V. 51. P. 670–680.
 Li C., Distelfeld A., Comis A., Dubcovsky J. Wheat flowering repressor VRN2 and promoter CO2 compete for interactions with NUCLEAR FACTOR-Y complexes // Plant J. 2011. V. 67. P. 763–773.
 Li C., Dubcovsky J. Wheat FT protein regulates VRN1 transcription through interactions with FDL2 // Plant J. 2008. V. 55. P. 543–554.
 Mendoza L., Thieffry D., Alvarez-Buylla E. Genetic control of flower morphogenesis in *Arabidopsis thaliana*: a logical analysis // Bioinformatics. 1999. V. 15. P. 593–606.
 Oliver S.N., Finnegan E.J., Dennis E.S. *et al.* Vernalization-induced flowering in cereals is associated with changes in histone methylation at the *VERNALIZATION1* gene // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 8386–8391.
 Papin J.A., Hunter T., Palsson B.O., Subramaniam S. Reconstruction of cellular signalling networks and analysis of their properties // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2005. V. 6. P. 99–111.
 Sawa M., Nusinow D.A., Kay S.A., Imaizumi T. FKF1 and GIGANTEA complex formation is required for day-length measurement in *Arabidopsis* // Sci. 2007. V. 318. P. 261–265.
 Shimada S., Ogawa T., Kitagawa S. *et al.* A genetic network of flowering-time genes in wheat leaves, in which an APETALA1/FRUITFULL-like gene, *VRN1*, is upstream of *FLOWERING LOCUS T* // Plant J. 2009. V. 58. P. 668–681.
 Smirnova O.G., Stepanenko I.L., Shumny V.K. The role of the COP1, SPA, and PIF proteins in plant photomorphogenesis // Biol. Bull. Rev. 2011. V. 1. No 4. P. 314–324.
 Song Y.H., Ito S., Imaizumi T. Similarities in the circadian clock and photoperiodism in plants // Curr. Opin. Plant Biol. 2010. V. 13. P. 594–603.
 Stephenson T.J., McIntyre C.L., Collet C. *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of the NF-Y family

- of transcription factors in *Triticum aestivum* // Plant Mol. Biol. 2007. V. 65 P. 77–92.
- Tiwari S.B., Shen Y., Chang H.C. *et al.* The flowering time regulator CONSTANS is recruited to the FLOWERING LOCUS T promoter *via* a unique *cis*-element // New Phytol. 2010. V. 187. P. 57–66.
- Trevaskis B., Hemming M.N., Dennis E.S. *et al.* The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals // Trends Plant Sci. 2007. V. 12. P. 352–357.
- Trevaskis B., Hemming M.N., Peacock W.J., Dennis E.S. *HvVRN2* responds to daylength, whereas *HvVRN1* is regulated by vernalization and developmental status // Plant Physiol. 2006. V. 140. P. 1397–1405.
- Turner A., Beales J., Faure S. *et al.* The pseudo-response regulator Ppd-H1 provides adaptation to photoperiod in barley // Sci. 2005. V. 310. P. 1031–1034.
- Yan L., Fu D., Li C., Blechl A. *et al.* The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of *FT* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 19581–19586.
- Yan L., Loukoianov A., Blechl A. *et al.* The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization // Sci. 2004. V. 303. No 5664. P. 1640–1644.
- Yan L., Loukoianov A., Tranquilli G. *et al.* Positional cloning of wheat vernalization gene *VRN1* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 6263–6268.
- Yu J.W., Rubio V., Lee N.Y. *et al.* COP1 and ELF3 control circadian function and photoperiodic flowering by regulating GI stability // Mol. Cell. 2008. V. 32. P. 617–630.
- Zhao X.Y., Liu M.S., Li J.R. *et al.* The wheat TaGI1, involved in photoperiodic flowering, encodes an *Arabidopsis* GI ortholog // Plant Mol. Biol. 2005. V. 58. P. 53–64.

A GENE REGULATORY NETWORK MODEL FOR VERNALIZATION AND SEASONAL FLOWERING RESPONSE IN WINTER WHEAT AND BARLEY

I.L. Stepanenko, O.G. Smirnova, I.I. Titov

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: stepan@bionet.nsc.ru

Summary

The transition from vegetative to reproductive development in wheat is regulated by seasonal cues, including vernalization and photoperiod. Here we present a simple logical model of the wheat development gene network. Vernalization accelerates flowering in winter cereals. It is regulated mainly by the vernalization genes *VRN1*, *VRN2*, and *VRN3*. After vernalization, *VRN1* downregulates the *VRN2* flowering repressor, thereby increasing the *VRN3* level. The expression of *VRN3* promotes further increases in the *VRN1* transcription level, generating a positive feedback loop, which enhances *VRN1* transcription to a threshold level required to initiate flowering. The products of the *PPD1* and *CO2* photoperiod genes increase *VRN3* expression under long daylight conditions. Seasonal changes in day length are perceived by plant photoreceptors and transmitted to the circadian clock to modulate flowering time. Here we integrate data on vernalization and photoperiod genes in a gene network. Using a synchronous Boolean model, we have simulated the network dynamics. This model can be useful to test the coherence of experimental data and to hypothesize gene interactions that remain to be discovered.

Key words: wheat, barley, *VRN1*, *VRN2*, *VRN3*, vernalization, photoperiod, day length, circadian rhythm, flowering, gene network, synchronous Boolean model.