

УДК 581.1

РЕЦЕПТОР МЕЛАТОНИНА *CAND2/PMTR1* УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ ПРИ ФОТООКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

© 2022 г. И. А. Бычков^{1,*}, Н. В. Кудрякова¹, А. Г. Шугаев¹,
член-корреспондент РАН Вл. В. Кузнецов¹, В. В. Кузнецов¹

Поступило 21.07.2021 г.

После доработки 21.09.2021 г.

Принято к публикации 21.09.2021 г.

Мелатонин – сигнальная молекула, участвующая во множественных стресс-зависимых реакциях. В условиях фотоокислительного стресса, вызывающего интенсивную генерацию АФК, экзогенный мелатонин (50 мкМ) способствовал поддержанию экспрессии генов митохондриального генома и активации экспрессии генов РНК-полимераз *RPOTh* и *RPOTrp*, действуя через рецептор *CAND2* и связанную с ним α -субъединицу гетеротримерного G-белка *GPA1*. У мутантов с дефектными генами *CAND2* и *GPA1*, в отличие от растений дикого типа, не наблюдалось снижения альтернативного пути дыхания листьев, а также активности альтернативной оксидазы и экспрессии гена *AOX1a*. Вместе с тем протекторное действие экзогенного мелатонина на ряд физиологических показателей не зависело от рецептора и было связано с прямой антиоксидантной функцией регулятора. Таким образом, мелатонин в условиях фотоокислительного стресса может действовать как антиоксидант и как гормон, способный регулировать экспрессию ядерных и органелльных генов через компоненты системы восприятия сигнала мелатонина.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, альтернативная оксидаза, мелатонин, митохондрии, экспрессия генов, световой стресс

DOI: 10.31857/S2686738922010061

ВВЕДЕНИЕ

В основе энергетического метаболизма клетки находятся митохондрии, поставляющие энергию в форме АТФ через окислительное фосфорилирование. Они содержат собственный геном, который является реликтом его прокариотического симбиотического предка альфа-протобактерии. В ходе эволюции в составе эукариотической клетки-хозяина органелльный геном постепенно уменьшался за счет потери генов или их миграции в ядерный геном.

Тем не менее митохондрии сохранили гены, кодирующие белки, тРНК и рРНК, которые транскрибируются ядерными РНК-полимеразами фагового типа. У двудольных растений в митохондриях присутствуют две РНК-полимеразы: *RPOTh* и *RPOTrp*, причем мутанты с инактивированным геном *RPOTh* являются летальными. *RPOTrp* поступает не только в митохондрии, но и в пластиды, где на стадии прорастания она

транскрибирует ряд оперонов, в том числе и оперон рРНК [1, 2]. Однако по мере роста *RPOTrp* функционирует, прежде всего, в митохондриях, транскрибируя гены субъединиц комплексов I и IV дыхательной цепи [3].

Митохондрии и хлоропласты – основные источники свободных радикалов в растениях. Мощным антиоксидантным потенциалом обладает мелатонин [4, 5]. Согласно гипотезе Tan et al. [6], митохондрии и хлоропласты были исходными сайтами биосинтеза мелатонина на ранней стадии эндосимбиоза, и лишь затем гены синтеза мелатонина транслоцировались в ядро. Основная функция мелатонина как антиоксиданта широкого спектра действия была приобретена порядка 3.6 млрд лет назад и считается независимой от рецепторов [7]. Однако его гормоноподобная сигнальная функция, возникшая в ходе эволюции и осуществляющая регуляцию экспрессии генов, предполагает участие сигнальных сетей.

В 2018 г. обнаружен потенциальный рецептор фитомелатонина *CAND2/PMTR1 Arabidopsis*, и показана его роль в регуляции закрытия устьиц [7]. Данный рецептор связан с G-белком *GPA1*, а в качестве сигнальных молекул используются

¹ Институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия
*e-mail: Ivan.a.b@mail.ru

H_2O_2 и Ca^{2+} . Рецептор также играет ключевую роль в опосредованной мелатонином реакции растений на осмотический стресс [8].

CAND2/PMTR1 имеет незначительное сходство аминокислотной последовательности с рецепторами мелатонина человека (MT1, MT2 и GPR50). Предполагается, что он возник уже после дивергенции растений и позвоночных как итог длительного существования эндосимбионтов внутри растительной эукариотической клетки [7]. В этой связи особый интерес представляет возможная роль рецептора фитомелатонина в ядерно-органельных взаимодействиях и, в частности, в регуляции экспрессии митохондриального генома. В представленной работе впервые показано, что при фотоокислительном стрессе рецептор фитомелатонина CAND2/PMTR1 вовлечен в регуляцию экспрессии генов митохондриальных РНК-полимераз и ряда митохондриальных генов, а также способен оказывать существенное влияние на процесс дыхания митохондрий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали растения *Arabidopsis thaliana*, экотип Columbia-0, и инсерционные нокаут-мутанты, созданные на его основе: *cand2* (NASC678658) и *gpa1* (NASC6534). Двухнедельные растения, выращенные на агаризованной MS-среде при цикле 16 ч свет/ 8 ч темнота, 23°C и уровне освещенности $60 \mu E m^{-2} s^{-1}$, переносили на жидкую среду с добавлением 50 мкМ мелатонина или без него на трое суток. Затем опытные растения подвергали фотоокислительному стрессу ($600 \mu E m^{-2} s^{-1}$) в течение 24 ч. Контрольные растения оставляли при интенсивности света $60 \mu E m^{-2} s^{-1}$. По окончании экспозиции сразу проводили измерения или образцы замораживали в жидком азоте и хранили при $-80^\circ C$. Параметры окислительного повреждения (содержание МДА, перекиси водорода и утечку электролитов) определяли в соответствии с Heath and Packer [9]. Относительный уровень транскриптов оценивали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени после обратной транскрипции на амплификаторе LigthCyclerR96 (Roche, Швейцария) согласно протоколу, приведенному в Danilova et al. [10]. Нуклеотидные последовательности праймеров приведены в Kühn et al. [3] и Shevtsov et al. [11].

Поглощение кислорода тканью в темноте определяли полярографически, используя электрод типа Кларка. Листья *A. thaliana* массой 30–35 мг помещали в термостатируемую (25°C) ячейку, содержащую дистиллированную воду (1.5 мл) при постоянном перемешивании. Между листьями и магнетиком помещали тефлоновую сеточку. Через 3–5 мин определения скорости дыхания в

ячейку вносили ингибиторы. Для ингибирования активности цитохромоксидазы и альтернативной (цианидрезистентной) оксидазы использовали 1 мМ KCN и 10 мМ салицилгидроксамовую кислоту (СГК) соответственно. Оптимальные концентрации ингибиторов были подобраны в предварительных опытах. Максимальную активность альтернативного пути дыхания (Valt) определяли по разнице поглощения кислорода листьями в отсутствие или в присутствии СГК на фоне добавленного KCN [12].

Статистический анализ данных по физиологическим параметрам и экспрессии генов проводили с использованием онлайн-калькулятора (astat.com/OneWay_Anova_with_TukeyHSD/) с однофакторным дисперсионным анализом (ANOVA) с последующим применением метода Тьюки. Все данные представлены в виде средних значений \pm их стандартные ошибки (SE).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Механизмы протекторного действия мелатонина в значительной мере определяются его концентрацией. При высоких концентрациях мелатонин выступает преимущественно в качестве антиоксиданта, тогда как при низких – в качестве регулятора [13]. В результате предварительных экспериментов нами была выбрана концентрация мелатонина 50 мкМ, позволяющая оценивать оба аспекта действия мелатонина при фотоокислительном стрессе.

Свет повышенной интенсивности выступал в качестве повреждающего фактора, а мелатонин вызывал снижение негативного эффекта стресса. Так, в условиях избыточного освещения экзогенный мелатонин способствовал снижению в 1.5–2 раза экспрессии гена *ELIP2*, используемого в качестве индикатора светового стресса (табл. 1). Однако эта реакция отсутствовала у мутантов *cand2* и *gpa1* по генам рецепции и элемента пути передачи мелатонинового сигнала. Как показал анализ мутантов, мелатонин в концентрации 50 мкМ проявлял антиоксидантные свойства независимо от наличия рецептора. В частности, у мутантов и растений дикого типа после обработки мелатонином практически не отличались такие показатели стресса, как содержание малонового диальдегида, утечка электролитов или содержание перекиси водорода (табл. 2), т.е. данные индикаторы не зависели от рецептора и были связаны с антиоксидантной функцией мелатонина.

Чтобы определить, влияют ли CAND2 и GPA1 на дыхательную активность растений при фотоокислительном стрессе, сравнивали скорости поглощения O_2 листьями *A. thaliana* дикого типа и мутантов при обработке мелатонином в условиях фотоокислительного стресса. Сильный свет в не-

Таблица 1. Влияние света высокой интенсивности ($600 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) и мелатонина (50 мкМ) на экспрессию ядерных генов – индикаторов фотоокислительного стресса и генов митохондриальных РНК-полимераз*

Генотип	Умеренный свет, MS	Сильный свет, MS	Умеренный свет, мелатонин	Сильный свет, мелатонин
<i>ELIP2, относительный уровень транскриптов</i>				
WT	1.000 ± 0.104^a	42.714 ± 5.161^b	1.304 ± 0.128^a	25.309 ± 3.697^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.098^a	39.588 ± 4.709^b	0.914 ± 0.092^a	36.402 ± 5.313^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.098^a	41.302 ± 0.206^b	1.103 ± 0.119^a	35.111 ± 4.121^b
<i>Aox1a</i>				
WT	1.000 ± 0.108^a	2.004 ± 0.196^b	1.097 ± 0.115^a	1.446 ± 0.128^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.099^a	1.705 ± 0.169^b	0.998 ± 0.095^a	1.821 ± 0.192^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.105^a	1.818 ± 0.181^b	0.916 ± 0.090^a	1.714 ± 0.181^b
<i>RPO7m</i>				
WT	1.000 ± 0.111^a	1.697 ± 0.182^b	0.861 ± 0.074^a	1.986 ± 0.204^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.106^a	1.975 ± 0.188^b	0.918 ± 0.097^a	2.128 ± 0.237^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.098^a	2.471 ± 0.206^b	0.895 ± 0.091^a	1.861 ± 0.198^b
<i>RPO7mp</i>				
WT	1.000 ± 0.089^a	1.464 ± 0.128^b	0.925 ± 0.088^a	2.006 ± 0.179^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.093^a	1.963 ± 0.199^b	0.830 ± 0.081^a	2.004 ± 0.209^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.118^a	2.972 ± 0.314^b	0.674 ± 0.088^c	2.365 ± 0.286^b

* Данные таблицы представляют собой средние значения \pm стандартные ошибки ($n \geq 3$). Разные буквы обозначают статистически значимые различия при $p < 0.05$ (ANOVA с последующим тестом Тьюки).

сколько раз увеличивал скорость дыхания листьев, а также максимальную активность альтернативной оксидазы, что соответствует данным, имеющимся в литературе [14].

В условиях нормального освещения не было обнаружено заметного влияния мелатонина на интенсивность дыхания листьев и активность альтернативной оксидазы. Однако при сильном свете в присутствии мелатонина активация альтернативного пути дыхания листьев растений дикого типа снижалась по сравнению с мутантными растениями (табл. 2). Полученные результаты согласуются с данными по влиянию мелатонина на экспрессию гена *AOX1a*, кодирующего наиболее чувствительный к стрессу изофермент альтернативной оксидазы (табл. 1). Этот фермент катализирует альтернативный электронтранспортный путь, позволяющий шунтировать дыхательный комплекс III и IV, избегая образования АФК. Однако при этом эффективность процесса окислительного фосфорилирования значительно уменьшается [15]. Таким образом, восприятие сигнала мелатонина может способствовать снижению

уровня альтернативного дыхания, оптимизируя энергетический выход.

Для изучения роли рецептора в экспрессии митохондриального генома сравнивали накопление транскриптов генов у растений дикого типа и мутантов *cand2* и *gpa1* (табл. 3).

В анализ были включены гены, представляющие основные функциональные группы хондриома, в том числе субъединицы комплексов I (*nad3* и *nad6*), III (*cob*), IV (*cox1*) и V (*atp6-1*) дыхательной цепи, биогенез цитохрома C (*ccmC*, *ccmFc*), рибосомные белки и rRNA (*rps4*, и *rrn26*), транспорта белков (*mttB*), а также матуразы (*matR*).

Окислительный стресс вызывал падение экспрессии большинства исследованных генов. При этом снижение уровня транскриптов наблюдалось как для *RPO7m*, так и для *RPO7mp*-транскрибируемых генов. Экзогенный мелатонин в условиях фотоокислительного стресса поддерживал экспрессию митохондриальных генов на более высоком уровне у дикого типа, но практически не влиял на накопление транскриптов этих генов у мутантов *cand2* и *gpa1*. Таким образом, CAND2 и GPA1 могут выступать в качестве ре-

Таблица 2. Влияние света высокой интенсивности ($600 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) и мелатонина (50 мкМ) на показатели фотоокислительного стресса, скорость дыхания листьев *A. thaliana* (Vt) и максимальную активность альтернативной оксидазы (Valt)*

Генотип	Умеренный свет, MS	Сильный свет, MS	Умеренный свет, мелатонин	Сильный свет, мелатонин
<i>Содержание МДА, мкмоль/г сырой массы</i>				
WT	1.918 ± 0.148 ^a	5.213 ± 0.119 ^b	2.011 ± 0.201 ^a	3.617 ± 0.129 ^c
<i>cand2</i>	2.021 ± 0.119 ^a	5.075 ± 0.319 ^b	2.219 ± 0.191 ^a	4.001 ± 0.198 ^c
<i>gpa1</i>	2.115 ± 0.161 ^a	5.404 ± 0.209 ^b	2.001 ± 0.117 ^a	4.039 ± 0.207 ^c
<i>Выход электролитов, %</i>				
WT	19.2 ^a	47.1 ^b	20.0 ^a	34.1 ^c
<i>cand2</i>	17.7 ^a	40.9 ^b	19.1 ^a	35.7 ^c
<i>gpa1</i>	18.1 ^a	39.4 ^b	20.2 ^a	33.2 ^c
<i>Содержание перекиси водорода, ммоль/г сырой массы</i>				
WT	0.617 ± 0.035 ^a	1.666 ± 0.089 ^b	0.540 ± 0.028 ^b	1.034 ± 0.055 ^c
<i>cand2</i>	0.570 ± 0.024 ^a	1.402 ± 0.050 ^b	0.399 ± 0.043 ^c	1.148 ± 0.051 ^d
<i>gpa1</i>	0.697 ± 0.012 ^a	1.430 ± 0.047 ^b	0.464 ± 0.046 ^c	0.993 ± 0.051 ^d
<i>Уровень дыхания, мкмоль O₂ за минуту/г сырой массы</i>				
WT	96 ± 21 ^a	393 ± 41 ^b	133 ± 23 ^a	284 ± 39 ^c
<i>cand2</i>	177 ± 13 ^a	455 ± 42 ^b	169 ± 21 ^a	446 ± 30 ^b
<i>gpa1</i>	167 ± 21 ^a	398 ± 37 ^b	158 ± 8 ^a	450 ± 44 ^b
<i>Активность альтернативной оксидазы, мкмоль O₂ за минуту/г сырой массы</i>				
WT	81 ± 15 ^a	383 ± 26 ^b	92 ± 14 ^a	232 ± 22 ^c
<i>cand2</i>	104 ± 15 ^a	387 ± 25 ^b	138 ± 25 ^a	376 ± 31 ^b
<i>gpa1</i>	131 ± 24 ^a	347 ± 28 ^b	103 ± 23 ^a	329 ± 35 ^b

* Данные таблицы представляют собой средние значения ± стандартные ошибки ($n \geq 3$). Разные буквы обозначают статистически значимые различия при $p < 0.05$ (ANOVA с последующим тестом Тьюки).

цепторов мелатонина при регуляции экспрессии митохондриального генома, что соответствует данным о локализации компонентов сигналинга мелатонина в этой органелле (http://bar.utoronto.ca/cell_efp/cgi-bin/cell_efp.cgi). В отсутствие стресса экзогенный мелатонин не оказывал достоверного влияния на экспрессию митохондриальных генов (табл. 3). Это еще раз подчеркивает ключевую роль мелатонина в защитных системах растений, продемонстрированную при анализе транскриптома *Arabidopsis* [16].

Известно, что накопление транскриптов определяется балансом между их синтезом и деградацией. Обработка мелатонином в условиях фотоокислительного стресса способствовала дополнительному росту интенсивности экспрессии генов обеих мтРНК-полимераз, который отсут-

ствовал у мутантов по рецепции мелатонина, т.е. мелатонин-зависимая регуляция экспрессии *RPO7m* и *RPO7mp* определялась функционирующей сигнальной цепью (табл. 1). Этот дополнительный рост, по-видимому, способствовал параллельной активации экспрессии митохондриальных генов.

В отсутствие экзогенного мелатонина наблюдались разнонаправленные изменения в экспрессии митохондриальных генов и генов мтРНК-полимераз: фотоокислительный стресс сопровождался повышением активности экспрессии генов обеих РНК-полимераз, несмотря на падение уровня транскриптов митохондриальных генов. Аналогичный рост экспрессии был зафиксирован и для пластидных РНК-полимераз ядерного кодирования при нарушениях гомеостаза пластид в

Таблица 3. Влияние света высокой интенсивности ($600 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) и мелатонина (50 мкМ) на экспрессию митохондриальных генов*

Генотип	Умеренный свет, MS	Сильный свет, MS	Умеренный свет, мелатонин	Сильный свет, мелатонин
<i>nad3</i>				
WT	1.000 ± 0.088^a	0.634 ± 0.071^b	0.939 ± 0.097^a	0.737 ± 0.068^{ab}
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.102^a	0.611 ± 0.062^b	0.988 ± 0.097^a	0.590 ± 0.055^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.111^a	0.599 ± 0.062^b	1.004 ± 0.106^a	0.613 ± 0.065^b
<i>nad6</i>				
WT	1.000 ± 0.108^a	0.491 ± 0.045^b	0.816 ± 0.092^a	1.310 ± 0.124^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.096^a	0.614 ± 0.066^b	0.971 ± 0.092^a	0.704 ± 0.075^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.101^a	0.585 ± 0.062^b	1.023 ± 0.092^a	0.804 ± 0.086^{ab}
<i>cob</i>				
WT	1.000 ± 0.103^a	0.279 ± 0.029^b	0.931 ± 0.090^a	0.771 ± 0.068^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.105^a	0.411 ± 0.042^b	0.902 ± 0.088^a	0.415 ± 0.041^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.117^a	0.501 ± 0.050^b	0.978 ± 0.098^a	0.600 ± 0.058^b
<i>cox1</i>				
WT	1.000 ± 0.108^a	0.481 ± 0.050^b	0.899 ± 0.086^a	1.197 ± 0.113^a
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.104^a	0.523 ± 0.060^b	0.908 ± 0.096^a	0.611 ± 0.063^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.113^a	0.586 ± 0.062^b	1.005 ± 0.109^a	0.669 ± 0.071^b
<i>atp6-1</i>				
WT	1.000 ± 0.098^a	0.241 ± 0.020^b	0.877 ± 0.089^{ac}	0.707 ± 0.069^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.100^a	0.316 ± 0.032^b	0.902 ± 0.095^a	0.414 ± 0.047^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.108^a	0.404 ± 0.051^b	1.004 ± 0.116^a	0.465 ± 0.051^b
<i>ccmC</i>				
WT	1.000 ± 0.096^a	0.439 ± 0.035^b	1.005 ± 0.102^a	0.742 ± 0.072^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.114^a	0.611 ± 0.057^b	0.902 ± 0.088^a	0.504 ± 0.055^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.109^a	0.505 ± 0.054^b	1.109 ± 0.128^a	0.481 ± 0.050^b
<i>ccmFc</i>				
WT	1.000 ± 0.107^a	0.401 ± 0.038^b	1.065 ± 0.113^a	0.758 ± 0.069^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.091^a	0.348 ± 0.033^b	0.899 ± 0.092^a	0.408 ± 0.045^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.103^a	0.487 ± 0.052^b	0.975 ± 0.102^a	0.476 ± 0.043^b
<i>rps4</i>				
WT	1.000 ± 0.105^a	0.695 ± 0.070^b	1.042 ± 0.113^a	0.920 ± 0.099^a
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.090^a	0.710 ± 0.067^b	1.068 ± 0.109^a	0.814 ± 0.082^{ab}
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.108^a	0.831 ± 0.074^a	1.054 ± 0.112^a	0.905 ± 0.087^a
<i>rrn26</i>				
WT	1.000 ± 0.102^a	0.351 ± 0.036^b	0.858 ± 0.082^a	0.806 ± 0.080^a
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.102^a	0.535 ± 0.054^b	0.978 ± 0.096^a	0.687 ± 0.072^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.099^a	0.754 ± 0.080^b	1.023 ± 0.097^a	0.765 ± 0.078^b
<i>mttB</i>				
WT	1.000 ± 0.105^a	0.365 ± 0.031^b	0.987 ± 0.094^a	0.607 ± 0.059^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.101^a	0.361 ± 0.033^b	0.875 ± 0.089^a	0.413 ± 0.044^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.117^a	0.589 ± 0.056^b	1.099 ± 0.116^a	0.517 ± 0.060^b
<i>matR</i>				
WT	1.000 ± 0.089^a	0.308 ± 0.029^b	0.916 ± 0.092^a	0.568 ± 0.055^c
<i>cand2</i>	1.000 ± 0.104^a	0.377 ± 0.041^b	0.898 ± 0.090^a	0.399 ± 0.041^b
<i>gpa1</i>	1.000 ± 0.119^a	0.520 ± 0.049^b	1.016 ± 0.108^a	0.489 ± 0.051^b

* Данные представляют собой средние значения \pm стандартные ошибки ($n \geq 3$). Разные буквы обозначают статистически значимые различия при $p < 0.05$ (ANOVA с последующим тестом Тьюки).

стрессовых условиях. Активацию этих генов связывают с компенсаторными механизмами, которые регулируются ретроградными сигналами, поступающими из органелл в ответ на общее снижение метаболических процессов [17].

Одним из маркеров митохондриального ретроградного сигналинга является *АОХ1а*, в регуляции экспрессии которого принимают участие транс-факторы *Abi4* (*AT2G40220*), *RAO1/CDKE1* (*AT5G63610*) и *RAO2/ANAC017* (*AT1G34190*) [18]. Снижение экспрессии *АОХ1а* может служить индикатором более эффективного функционирования митохондрий в условиях фотоокислительного стресса при обработке экзогенным мелатонином.

Таким образом, впервые показано участие рецептора мелатонина *CAND2* в регуляции экспрессии митохондриальных генов при фотоокислительном стрессе. Поддержание экспрессии митохондриального генома может осуществляться через механизм регуляции РНК-полимераз *RPOТm* и *RPOТmp*. Экзогенный мелатонин способен прямо снижать фотоокислительный стресс и оказывать влияние на процессы дыхания на физиологическом и молекулярном уровнях.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-34-90029).

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.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Courtois F., Merendino L., Demarsy E., et al. Phage-type RNA polymerase RPOТmp transcribes the *rrn* operon from the PC promoter at early developmental stages in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2007. V. 145. P. 712–721.
2. Swiatecka-Hagenbruch M., Emanuel C., Hedtke B., et al. Impaired function of the phage-type RNA polymerase RpoТp in transcription of chloroplast genes is compensated by a second phage-type RNA polymerase // Nucleic Acids Res. 2008. V. 36. № 3. P. 785–792.
3. Kühn K., Richter U., Meyer E.H., et al. Phage-type RNA polymerase RPOТmp performs gene-specific transcription in mitochondria of *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell. 2009. V. 21. P. 2762–2779.
4. Hernández I.G., Gomez F.J., Cerutti S., Arana M.V., Silva M.F. Melatonin in *Arabidopsis thaliana* acts as plant growth regulator at low concentrations and preserves seed viability at high concentrations // Plant Physiol. Biochem. 2015. V. 94. P. 191–196.
5. Butsanets P.A., Shugaeva N.A., Shugaev A.G. Effect of Melatonin and Salicylic Acid on ROS Generation by Mitochondria of Lupine Seedlings // Russ. J. Plant Physiol. V. 68. P. 745–753.
6. Tan D.X., Manchester L.C., Liu X., et al. Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes // J. Pineal Res. 2013. V. 54. № 2. P. 127–138.
7. Wei J., Li D.X., Zhang J.R., et al. Phytomelatonin receptor PMTR1-mediated signaling regulates stomatal closure in *Arabidopsis thaliana* // J. Pineal Res. 2018. V. 65. № 2. P. e12500.
8. Wang L.F., Li T.T., Zhang Y., et al. CAND2/PMTR1 Is Required for Melatonin-Conferred Osmotic Stress Tolerance in *Arabidopsis* // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 8. P. 4014.
9. Heath L.R., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. // 1968. V. 125. P. 189–198.
10. Danilova M.N., Kudryakova N.V., Voronin P.Yu., et al. Membrane receptors of cytokinin and their regulatory role in *Arabidopsis thaliana* plant response to photooxidative stress under conditions of water deficit // Russ. J. Plant Physiol. 2014. V. 61. P. 434–442.
11. Shevtsov S., Nevo-Dinur K., Faigon L., et al. Control of organelle gene expression by the mitochondrial transcription termination factor mTERF22 in *Arabidopsis thaliana* plants // PLoS ONE. 2018. V. 13. P. e0201631.
12. Moller I.M., Berzi A., van der Plas L.H.W., Lambers H. Measurement of the activity and capacity of the alternative pathway in intact plant tissues. Identification of problems and possible solutions // Physiol. Plant. 1988. V. 72. P. 642–649.
13. Hardeland R. Melatonin in Plants—Diversity of levels and multiplicity of functions // Front Plant Sci. 2016. V. 7. article 198.
14. Bartoli C.G., Yu J., Gomes F., et al. Inter-relationship between light and respiration in the control of ascorbic acid synthesis and accumulation in *Arabidopsis thaliana* leaves // J. Exp. Bot. 2006. V. 57. № 8. P. 1621–1631.
15. Merendino L., Courtois F., Grübler B., et al. Retrograde signals from mitochondria reprogramme skoto-morphogenesis in *Arabidopsis thaliana* via alternative oxidase 1a // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 2020. V. 375. P. 20190567.
16. Weeda S., Zhang N., Zhao X., et al. Arabidopsis transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems // PLoS ONE. 2014. V. 9. № 3. P. e93462.
17. Tadini L., Peracchio C., Trotta A., Colombo et al. GUN1 influences the accumulation of NEP-dependent transcripts and chloroplast protein import in *Arabidopsis cotyledons* upon perturbation of chloroplast protein homeostasis // Plant J. 2020. V. 101. P. 1198–1220.
18. Giraud E., Van Aken O., Ho L.H., Whelan J. The transcription factor ABI4 is a regulator of mitochondrial retrograde expression of ALTERNATIVE OXIDASE1a // Plant Physiol. 2009. V. 150. P. 1286–1296.

THE MELATONIN RECEPTOR CAND2/PMTR1 IS INVOLVED IN THE REGULATION OF MITOCHONDRIAL GENE EXPRESSION UNDER PHOTOOXIDATIVE STRESS

I. A. Bychkov^{a,#}, N. V. Kudryakova^a, A. G. Shugaev^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

[#]e-mail: Ivan.a.b@mail.ru

Melatonin is a signaling molecule that mediates multiple stress-dependent reactions. Under photooxidative stress conditions generating intensive ROS production, exogenous melatonin (50 μ M) contributed to maintaining the expression of mitochondrial encoded genes and up-regulation of RNA-polymerase genes RPOT_m and RPOT_{mp}, operating through the CAND2 receptor and α -subunit of the heterotrimeric G protein GPA1 coupled with CAND2. Unlike wild-type plants, mutants with defective CAND2 and GPA1 genes, exhibited no decrease in the alternative pathway of leaf respiration, as well as the activity of an alternative oxidase, and the expression of the AOX1a gene. At the same time, the protective effect of exogenous melatonin on some physiological indicators did not depend on the receptor and was associated with the direct antioxidant function of the regulator. Thus, melatonin under photo-oxidative stress conditions can act as an antioxidant and as a hormone capable of regulating the expression of nuclear and organelle genes through the components of melatonin signal perception.

Keywords: Arabidopsis thaliana, alternative oxidase, melatonin, mitochondria, gene expression, light stress