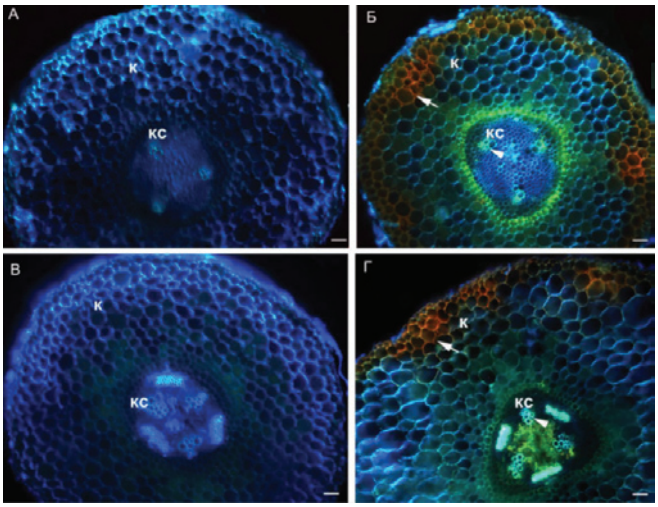
# Важнейшие результаты фундаментальных и прикладных исследований КИББ, полученные в 2017 году и рекомендованые Учёным советом института для включения в отчётный доклад РАН

**1.**

*У растений обнаружена ранее неизвестная циклогексимидная клеточная сигнализация.*

*Аннотация*. Антибиотик циклогексимид (ЦГ), продуцируемый почвенной фитопатогенной бактерией *Streptomyces griseum*, вызывает ингибирование синтеза салицилат-индуцируемых белков, отсутствовавших в контрольном варианте корней гороха.

В то же время, обнаружена ЦГ индукция уникально большого набора ферментов фенилпропаноидного метаболизма, что сопровождается значительным повышением как суммарного содержания фенольных соединений, так и их числа. Накопление антипатогенных олигомерных фенолов (фитоалексинов) происходит в клетках эндодермы, а полимерного лигнина, усиливающего барьерную функцию клеточных стенок – в клетках ксилемы.




Гистохимическая картина локализации фенольных соединений в корнях гороха *Pisum sativum* L. Срезы окрашены калькофлуором. Поперечные срезы в 1 мм от кончика корня. Красно-оранжевый цвет – олигомерные фенолы, зеленоватый – лигнин, сине-голубой – целлюлоза. А – контроль, Б – ЦГ, 10 мкМ, 24 ч; В – контроль, Г – ЦГ, 10 мкМ, 48 ч; К – кора, КС – ксилема. Масштабная линия – 50 мкм.

Сделан вывод об отличающейся реакции на ЦГ различных тканей корней. В клетках паренхимы ЦГ выполняет классическую роль ингибитора трансляции, подавляя образование салицилат-индуцируемых белков, в то время как клетки коры и ксилемы воспринимают ЦГ в качестве сигнала (MAMP) об атаке патогена, “включающего” ЦГ сигнализацию, что вызывает укрепление иммунитета – активацию синтеза ферментов фенилпропаноидного метаболизма и, в результате, накопление антипатогенных фенольных соединений.

Это должно приводить не только к защите от самого продуцента ЦГ – *Streptomyces griseum*, но и к изменению структуры популяции ризосферы, поскольку известно, что олигомерные фенолы способны экспортироваться из корней и вызывать дисфункцию клеточных мембран почвенных микроорганизмов.

Полученные результаты не только свидетельствуют о существовании циклогексимидной клеточной сигнализации, но и вносят существенный вклад в понимание ещё мало изученной проблемы взаимоотношений растений и почвенных микроорганизмов.

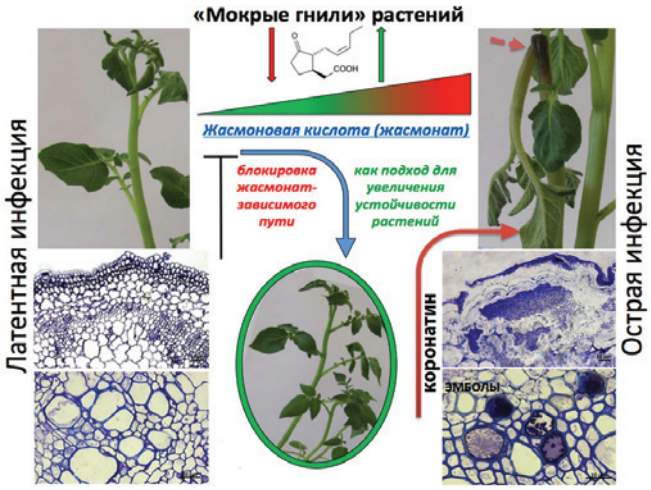
*Публикации*:

1. Тарчевский И.А., Егорова А.М., Петрова Н.В., Агеева М.В., Акулов А.Н.: Циклогексимид-индуцируемый “фенольный взрыв” в корнях гороха // Прикладная биохимия и микробиология. 2017, Т. 53, № 5, С. 497–501.
2. Тарчевский И.А., Егорова А.М., Петрова Н.В., Агеева М.В., Акулов А.Н.: Циклогексимид как фактор регуляции взаимоотношений растений и почвенных микроорганизмов // Сборник статей межд. науч.-практ. конф., посвящённой 130-й годовщине со дня рожде-

ния академика Н.И. Вавилова / Саратов, Саратовский ГАУ, ООО “Амирит” 2017, С. 163–165.
3. Тарчевский И.А.: Молекулярная война между растениями и микроорганизмами. Роль салициловой кислоты в фитоиммунитете // Годневские чтения XXIY / НАН Беларуси, Минск, Изд-во. “Право и экономика” 2017, 106 с.

**2.**

*Разработана модель молекулярного взаимодействия патогенной бактерии Pectobacterium atrosepticum и растений табака, объясняющая механизм развития заболевания “чёрная ножка” картофеля.*




*Аннотация*. Бактериозы относятся к наиболее вредоносным заболеваниям растений. Особую опасность представляют мягкие гнили плодовых и “чёрная ножка” картофеля. Основным фактором патогенности вызывающих заболевание пектолитических бактерий (пектобактерий) служат гидролитические ферменты, разрушающие клеточную стенку растений, что приводит к некрозу тканей. Результаты цитологических исследований и транскриптомного анализа показывают, что пектобактерии могут взаимодействовать с растением альтернативным способом. При этом активность гидролаз используется для частичного гидролиза крупных полисахаридов до полимерных блоков. Из этих блоков выстраивается гелевый матрикс бактериальных эмбол, закупоривающих ксилемные сосуды. Кроме полисахаридов растения снабжают бактерии фенольными и перекисными соединениями, необходимыми для связывания полисахаридного каркаса в трёхмерную сеть фенолоксидазами бактерий. Закупорка сосудов позволяет микроорганизмам закрепляться в ксилеме и распространяться по растению. На следующем этапе патоген мигрирует к подземным органам или переходит в паренхиму, что вызывает симптомы мягкой гнили.

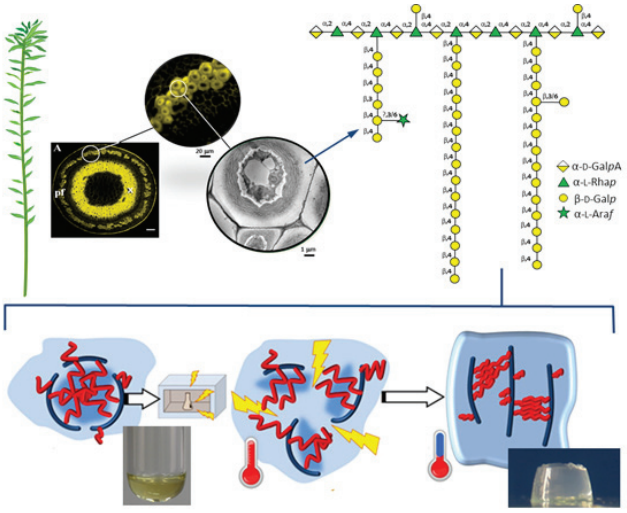
Развитие острой или латентной инфекции зависит от баланса салициловой кислоты и жасмоната – индукторов одного из двух иммунных ответов, отвечающих за защиту от некротрофных и биотрофных патогенов. Пектобактерии способны сдвигать баланс и провоцировать восприимчивый ответ растений, вырабатывая функциональный аналог жасмоната, коронатин. Мутанты по синтезу этого фитотоксина не вызывают мягких гнилей, но способны колонизировать растения. Разработка способов искусственного ослабления жасмонат-зависимого ответа может стать эффективным приёмом контроля мягких гнилей.

*Публикации*:

1. Gorshkov V., Kwenda S., Petrova O., Osipova E., Gogolev Y., Moleleki L.N.: Global gene expression analysis of cross-protected phenotype of *Pectobacterium atrosepticum* // PLoS ONE. 2017, V. 12 (1), doi: e0169536. 3.057
2. Gorshkov V., Islamov B., Mikshina P., Petrova O., Burygin G., Sigida E., Shashkov A., Daminova A., Ageeva M., Idiyatullin B., Salnikov V., Zuev Y., Gorshkova T., Gogolev Y.: *Pectobacterium atrosepticum* exopolysaccharides: identification, molecular structure, formation under stress and in planta conditions // Glycobiology. 2017, P. 1–11, doi: 10.1093/glycob/cwx069
3. Gorshkov V., Tarasova N., Gogoleva N., Osipova E., Petrova O., Kovtunov E., Gogolev Y.: Polyphenol oxidase from *Pectobacterium atrosepticum*: identification and cloning of gene and characteristics of the enzyme // J. Basic Microbiol. 2017, P. 1–12, doi: 10.1002/jobm.201700413

**3.**

*Выявлен и охарактеризован новый механизм гелеобразования пектиновых полисахаридов, основанный на взаимодействии боковых галактановых цепей рамногалактуронанов I. Установлены структурные особенности этих полисахаридов и факторы их микроокружения, необходимые для гелеобразования.*




Происхождение, элементы первичной структуры и схематичное представление этапов гелеобразования рамногалактуронана I.

*Аннотация*. Пектины – один из наиболее охарактеризованных классов гелеобразующих полисахаридов высших растений. Способность пектинов к гелеобразованию связывают, главным образом, с наличием в их структуре высоко- и низкометоксилированной полигалактуроновой кислоты. Принято считать, что рамногалактуронаны высших растений при отсутствии в структуре фрагментов гомогалактуронана гелей не образуют, в то же время их присутствие в составе гелеобразующего пектинового комплекса влияет на его механические и физико-химические свойства.

На примере рамногалактуронанов I желатинозных волокон льна впервые была выявлена и охарактеризована способность этих пектиновых полисахаридов образовывать при физиологических концентрациях гидрогели, обладающие гиперэластичными свойствами и формируемые по ранее неописанному механизму.

Установлено, что механизм гелеобразования реализуется за счёт взаимодействия боковых галактановых цепей при микроволновом воздействии на агрегаты полисахарида, не приводя к существенным модификациям в его первичной структуре.

Необходимыми условиями для формирования прочного гидрогеля из рамногалактуронана I служат его структурные особенности (отсутствие гомогалактуронана и модифицирующих групп, средняя степень полимеризации β-(1,4)-D-галактановых цепей – 14-15 остатков) и факторы микроокружения (молекулы воды, прочно удерживаемые полисахаридом).

Анализ *in silico* показал пригодность рамногалактуронанового геля с установленными механическими свойствами для реализации механизма создания натяжения микрофибрилл целлюлозы в клеточной стенке желатинозных волокон.

Описанная гелеобразующая способность рамногалактуронанов I может лежать в основе прикладного использования сходных полисахаридов при создании функциональных материалов.

*Публикации*:

1. Mikshina P.V., Makshakova O.N., Petrova A.A., Gaifullina I.Z., Idiyatullin B.Z., Gorshkova T.A., Zuev Yu.F.: Gelation of rhamnogalacturonan I is based on galactan side chain interaction and does not involve chemical modifications // Carbohydrate Polymers. 2017, V. 171, P. 143–151.
2. Makshakova O.N., Gorshkova T.A., Mikshina P.V., Zuev Yu.F., Perez S.: Metrics of rhamnogalacturonan I with β-(1→4)-linked galactan side chains and structural basis for its self-aggregation // Carbohydrate Polymers. 2017, V. 158, P. 93–101.

**3.**

*Рекомбинантные белки CYP443D1 и CYP5164B1 актинии (Nematostella vectensis) и бурой водоросли (Ectocarpus siliculosus) идентифицированы как представители нового класса ферментов клана CYP74, эпоксиалкогольсинтазы. Оба фермента катализируют гомолитическую изомеризацию гидроперекисей жирных кислот в биоактивные оксилипины, эпоксиспирты.*

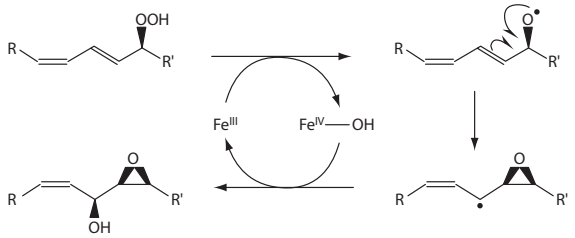



Схема катализируемой NvEAS реакции превращений 9(*S*)-HPOD. 1 – продукт – (9*S*,10*R*,11*S*,12*Z*)-9,10-эпокси-11-гидрокси-12-октадеценовая кислота.

*Аннотация*. Неклассические цитохромы P450 семейства CYP74 контролируют биосинтез биологически активных оксилипинов у растений. Прогресс геномных исследований в последние годы привёл к обнаружению родственных генов клана CYP74 у водорослей и представителей *Metazoa*. Обнаружены и клонированы гены этого клана CYP443D1 и CYP5164B1 литоральной роющей актинии (*Nematostella vectensis*) и бурой водоросли (*Ectocarpus siliculosus*), соответственно. Предпочтительным субстратом для рекомбинантных CYP443D1 и CYP5164B1 является 9(S)-гидроперекись линолевой кислоты, которая превращалась в эпимеры 9,10-эпокси-11-гидрокси-октадеценовой кислоты с (9*S*,10*S*,11*S*)- и (9*S*,10*R*,11*S*)-конфигурацией, соответственно. Таким образом, оба фермента являются эпоксиалкогольсинтазами. Оба атома $^{18}O$ из [$^{18}O_2$]9-гидроперекиси количественно включались в продукт, что свидетельствует о каталитическом действии ферментов по механизму гомолитической перегруппировки.

*Публикации*:

1. Toporkova Y.Y., Fatykhova V.S., Gogolev Y.V., Khairutdinov B.I., Mukhtarova L.S., Grechkin A.N.: Epoxyalcohol synthase of *Ectocarpus siliculosus*. First CYP74-related enzyme of oxylipin biosynthesis in brown algae. // Biochim. Biophys. Acta. 2017, V. 1862(2), P. 167–175.
2. Toporkova Y.Y., Gorina S.S., Mukhitova F.K., Hamberg M., Ilyina T.M., Mukhtarova L.S., Grechkin A.N.: Identification of CYP443D1 (CYP74 clan) of *Nematostella vectensis* as a first cnidarian epoxyalcohol synthase and insights into its catalytic mechanis. // Biochim. Biophys. Acta. 2017, V. 1862(10), P. 1099–1109.