ГЕНОМНЫЕ И ПРОТЕОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ, ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В РАБОТЕ С РАСТЕНИЯМИ

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ АЛЬФА-КРИСТАЛЛИНЫ КАК КЛЮЧ К УСТОЙЧИВОСТИ ФИТОПАТОГЕННЫХ МОЛЛИКУТ К ТЕМПЕРАТУРНЫМ КОЛЕБАНИЯМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Вишняков Иннокентий Евгеньевич¹, Чернова Лилия Сергеевна^{1,2}, Живайкина Дарья Андреевна^{1,2}, Каюмов Айрат Рашитович²

¹Институт цитологии Российской академии наук, Россия, Санкт-Петербург ²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань innvish@incras.ru

Фитоплазмы — это бактерии, поражающие широкий спектр растений и вызывающие практически не поддающиеся лечению заболевания (фитоплазмозы). Филогенетически фитоплазмы принадлежат к классу Mollicutes (общее название — микоплазмы) и являются близкими родственниками собственно микоплазм (Mycoplasmatales), а также энтомоплазм (Entomoplasmatales), галоплазм (Haloplasmatales) и анаэроплазм (Anaeroplasmatales). Все микоплазмы лишены клеточной стенки, а также являются наиболее маленькими микроорганизмами, которые удаётся культивировать на искусственных питательных средах. Геном фитоплазм ещё в большей степени редуцирован по сравнению с остальными представителями класса Mollicutes. Однако фитоплазмы сохранили разветвлённую мультишаперонную сеть, обеспечивающую более комплексный, чем у многих других микоплазм, ответ клетки на различные стрессовые воздействия. Мультишаперонная сеть фитопатогенных молликут включает малые белки теплового шока альфа-кристаллинового типа (мБТШ). Эти белки «скорой помощи» одними из первых реагируют на стрессы, вызывающие нарушение структуры клеточных белков (в том числе — на тепловой шок).

На примере мБТШ модельной микоплазмы Acholeplasma laidlawii, способной проявлять свойства фитопатогена, но, в отличие от других фитоплазм, относительно легко культивируемой в лабораторных условиях, мы исследовали некоторые свойства альфакристаллинов фитопатогенных молликут. В клетке другой модельной бактерии, Escherichia coli, присутствуют два мБТШ, IbpA и IbpB. IbpA отвечает за связывание субстратов, находясь в фибриллярной форме. ІbpВ при взаимодействии с ІbpА преобразует комплексы в глобулы и способствует диссоциации субстратных белков. За восстановление нативной структуры субстратов отвечают АТФ-зависимые шапероны (Hsp70, Hsp100). IbpA E. coli в отсутствии IbpB не способен передавать субстратные белки в работу Hsp100. A. laidlawii, как и фитоплазмы, обладает только одним мБТШ. Эффективность мультишаперонной сети A. laidlawii, вероятно, можно объяснить способностью единственного гомолога мБТШ IbpA образовывать как фибриллы, активно связывающие субстраты, так и глобулярные четвертичные структуры, необходимые для диссоциации субстратов мБТШ и последующей дезагрегации белков. В отличие от IbpA E. coli, IbpA A. laidlawii не ингибирует работу системы in vivo и способен напрямую взаимодействовать с шапероном Hsp100. Таким образом, IbpA A. laidlawii является первым мБТШ, в котором конкуренция между N и C-концевыми доменами регулирует сдвиг четвертичной структуры белка в фибриллярную или глобулярную форму, представляя молекулярный механизм регуляции его функции. Кроме того, недавно нами было показано, что при наличии краудинг агента (РЕG4000) и нуклеотидов (ГТФ, АТФ) IbpA A. laidlawii может принимать фибриллярную либо глобулярную форму в зависимости от температуры окружающей среды, что проливает свет на возможный механизм регуляции функции этого мБТШ in vivo. Вероятно, бактериальные альфа-кристаллины могут играть роль ключевого фактора, обеспечивающего устойчивость фитопатогенных молликут к температурным колебаниям окружающей среды.

GenBio2022: III Международная научно-практическая конференция «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений»

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант №22-24-01150). Ключевые слова: фитоплазмы, мультишаперонная сеть, альфа-кристаллины, Acholeplasma laidlawii, мБТШ, ІbpA, защита от стресса

BACTERIAL ALPHA-CRYSTALLINS AS A KEY FACTOR OF THE RESISTANCE OF PHYTOPATHOGENIC MOLLICUTES TO ENVIRONMENTAL TEMPERATURE VARIATIONS

Vishnyakov Innokentii Evgenievich¹, Chernova Lilia Sergeevna^{1,2}, Zhivaikina Daria Andreevna^{1,2}, Kayumov Airat Rashitovich²

¹Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Russia, St. Petersburg

²Kazan (Volga Region) Federal University, Russia, Kazan

innvish@incras.ru

Phytoplasmas are bacteria that infect a wide range of plants and cause almost untreatable diseases (phytoplasmoses). Phylogenetically, phytoplasmas belong to the class *Mollicutes* (common name - mycoplasmas) and are close relatives of "proper" mycoplasmas (*Mycoplasmatales*), as well as entomoplasmas (*Entomoplasmatales*), haloplasmas (*Haloplasmatales*) and anaeroplasmas (*Anaeroplasmatales*). All mycoplasmas are devoid of a cell wall, and are also the smallest microorganisms that can be cultivated on artificial nutrient media. The genome of phytoplasmas is even more reduced compared to other members of the *Mollicutes* class. However, phytoplasmas retained a branched multichaperone network, which provides a more complex cell response to various stresses than in many other mycoplasmas. The multichaperone network of phytopathogenic mollicutes includes alpha crystallin-type small heat shock proteins (sHsps). These "ambulance" proteins are among the first to respond to stresses that cause disruption of the structure of cellular proteins (including heat shock).

On the example of the sHsp of model mycoplasma Acholeplasma laidlawii, which is capable of exhibiting the properties of a phytopathogen, but, unlike other phytoplasmas, is relatively easily cultivated in the laboratory, we studied some properties of alpha-crystallins of phytopathogenic mollicutes. In the cell of another model microorganism, E. coli, there are two sHsps, IbpA and IbpB. IbpA is responsible for substrate binding, being in fibrillar form. IbpB, when interacting with IbpA, transforms the complexes into globules and promotes the dissociation of substrate proteins. ATPdependent chaperones (Hsp70, Hsp100) are responsible for the restoration of the native structure of substrates. IbpA E. coli in the absence of IbpB is not able to transfer substrate proteins to the Hsp100 chaperone. A. laidlawii, like phytoplasmas, has only one sHsp. The efficiency of the A. laidlawii multichaperone network can probably be explained by the ability of the only sHsp homologue IbpA to form both fibrils that actively bind substrates and globular quaternary structures necessary for dissociation of sHsp substrates and subsequent protein disaggregation. Unlike IbpA from E. coli, IbpA from A. laidlawii does not inhibit the system in vivo and is able to directly interact with the Hsp100 chaperone. Thus, IbpA A. laidlawii is the first sHsp in which competition between the N- and C-terminal domains regulates the shift of the quaternary structure of the protein into a fibrillar or globular form, representing the molecular mechanism of regulation of its function. In addition, we have recently shown that, in the presence of a crowding agent (PEG4000) and nucleotides (GTP, ATP), IbpA A. laidlawii can take a fibrillar or globular form, depending on the ambient temperature, which sheds light on a possible mechanism of regulation of the function of this sHsp in vivo. Probably, bacterial alpha-crystallins can play the role of a key factor that ensures the resistance of phytopathogenic mollicutes to environmental temperature fluctuations.

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant no. 22-24-01150). *Keywords:* phytoplasmas, multichaperone network, alpha-crystallins, *Acholeplasma laidlawii*, sHSP, IbpA, stress protect

GenBio2022: III Международная научно-практическая конференция «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений»