

ИЗУЧЕНИЕ КАСПАЗО-3-ПОДОБНОЙ ПРОТЕАЗЫ (DEVDAЗЫ) КАК ДЕТЕРМИНАНТЫ S-РНКАЗНОЙ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ У *SOLANUM PENNELLII*

Захарова Е. В. , Ханина Т. П. , Голиванов Я. Ю.

ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии"

zakharova_ekater@mail.ru

Три основных типа клеточной активности — деление, растяжение и запрограммированная гибель клеток (ПКС) определяют рост и развитие организма. ПКС у растений может различаться, но в целом имеет ряд общих черт, в частности, активацию каспазо-подобных протеаз (КПП), фрагментацию ДНК, высвобождение цитохрома с из митохондрий, генерацию активных форм кислорода и др. КПП являются наиболее типичными маркерами ПКС. КПП — группа эндонуклеаз, расщепляющих различные белки по остаткам аспарагиновой кислоты. В норме эти белки располагаются в центральной вакуоли; однако индукция ПКС приводит к деградации этой вакуоли и последующему высвобождению КПП и других литических ферментов в цитоплазму.

Ранее нами было показано, что в процессе гаметофитной самонесовместимости (СН) S-РНКазного типа у петунии пыльцевые трубки (ПТ) погибают в тканях пестика посредством ПКС, индуцированной СН. При этом наблюдается активация КПП в самонесовместимых ПТ. В настоящей работе получены схожие данные на другом модельном объекте, еще одном представителе семейства пасленовых самонесовместимом диком виде томатов *Solanum pennellii*. Активность КПП в живых ПТ визуализировали с помощью набора Image-iT™ LIVE Green Poly Caspases Detection Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США) с реагентом FLICA для обнаружения большинства каспаз (включая каспазы 1 и 3–9). Он также содержал йодид пропидия, краситель, который позволяет одновременно оценивать морфологию ядра и целостность плазматической мембраны. Прижизненная визуализация позволила нам обнаружить активность КПП в самонесовместимых ПТ томата. По некоторым данным, MAP-киназа активирует DEVDAзу и ремоделирует актиновый цитоскелет. Деградация актинового цитоскелета нарушает целостность плазматической мембраны и, возможно, разрушает вакуоль, тем самым высвобождая S-РНказы, далее происходит деградация ядерной ДНК, деградация клеточных органелл и ПКС.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (госзадание № FGUM-2022-0003).

CASPASE-3-LIKE PROTEASE (DEVDASE) INVESTIGATION AS A DETERMINANT OF SRNASE SELF-INCOMPATIBILITY IN *SOLANUM PENNELLII*

Zakharova E. V. , Khanina T. P. , Golivanov Y. Y.

All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology
zakharova_ekater@mail.ru

Division, elongation, and programmed cell death (PCD) are three main types of cellular activity that determine the growth and development of an organism.

PCD in plants can vary but generally includes several common characteristics, involving the activation of caspase-like proteases (CLPs), DNA fragmentation, cytochrome c release from mitochondria, and the production of reactive oxygen species, etc. CLPs are the most typical markers of PCD. CLPs are a group of endonucleases that cleave various proteins at aspartic acid residues. Normally, these proteins are located in the central vacuole; however, the induction of PCD leads to the degradation of a vacuole and the subsequent release of CLPs and other lytic enzymes into the cytoplasm.

Previously, in our studies was demonstrated that in the process of S-RNase type gametophytic self-incompatibility (SI) in petunia, pollen tubes (PTs) die in pistil tissues through PCD induced by SI. During this process, activation of CLPs was observed in self-incompatible PTs. In the present work, similar data were obtained in *Solanum pennellii* the self-incompatible wild tomato species and another member of the *Solanaceae* family. The activity of CLPs in living PTs was visualized using the Image-iT™ LIVE Green Poly Caspases Detection Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA) with FLICA reagent for detecting most caspases (including caspases 1 and 3-9). The kit also contained propidium iodide, a dye that allows simultaneous valuation of nuclear morphology and plasma membrane integrity. The *in vivo* visualization allowed us to detect CLP activity in the self-incompatible PTs of tomato. According to several studies, MAP kinase activates DEVDase and modifies the actin cytoskeleton. The degradation of the actin cytoskeleton disrupts the integrity of the plasma membrane and apparently destroys the vacuole, thereby releasing S-RNases, leading to nuclear DNA degradation, degradation of cellular organelles, and PCD.

This research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (State Assignment No. FGUM-2022-0003).