

Регуляция активных форм кислорода и уровня паттерн-распознающих рецепторов под влиянием сигнальных молекул ризобий как основа развития бобово-ризобиального симбиоза

А.М. Дымо, П.Ю. Козюлина, О.А. Павлова, Е.С. Канцурова, А.Д. Бовин, А.В. Долгих, Е.А. Долгих
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия
* dymoalina@yandex.ru

Цель: При формировании внутриклеточного симбиоза клубеньковые бактерии (ризобии) способны эффективно подавлять иммунный ответ со стороны бобовых растений. Оказалось, что такой активностью обладают сигнальные молекулы Nod-факторы, которые выделяются ризобиями. Однако как осуществляется такая регуляция остается практически неизученным. Мы предположили, что Nod-факторы могут активировать гены ферментов, влияющих на стабильность паттерн-распознающих рецепторов (ППР) и стимулируемых ими митоген-активируемых протеинкиназ (МАР-киназ), что может приводить к подавлению иммунного ответа со стороны растений. В связи с этим, целью нашей работы было выявить регуляторы, которые активируются у растений под влиянием Nod-факторов и участвуют в контроле иммунного ответа.

Материалы и методы: Для поиска возможных регуляторов иммунного ответа у растений, был проведен транскриптомный и протеомный анализ корней гороха, обработанных Nod-факторами. Для проверки возможности взаимодействия выявленных новых регуляторов с ППР и МАР-киназами был осуществлен их синтез в листьях табака с помощью агробактериальной трансформации. Для этого были получены конструкции в векторе pBIN19. Для изучения роли МАРКК6 и рецептора LYK11 при бобово-ризобиальном симбиозе были получены конструкции со сверхэкспрессией кодирующих их генов. Поиск дополнительных регуляторов, взаимодействующих с МАРКК6, был проведен с помощью скрининга библиотек в дрожжевой двугибридной системе.

Результаты: Транскриптомный анализ корней гороха, обработанных сигнальными молекулами ризобий Nod-факторами, позволил выявить гены Е3-убиквитин-лигаз и фосфатаз, которые могут влиять на стабильность ППР и активность МАР-киназ. Протеомный анализ корней гороха показал, что под влиянием Nod-факторов существенно увеличивался синтез ферментов с антиоксидантной активностью (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионтрансферазы и тиоредоксинов), которые блокируют избыточное накопление АФК и подавляют окислительный стресс. Одним из ключевых ППР у гороха является рецептор LYK9, способный узнавать муреин ризобий. При передаче сигнала от LYK9 активируется комплекс МАР-киназ и, прежде всего, МАРКК6. В композитных растениях гороха со сверхэкспрессией гена *МАРКК6* наблюдали значительное увеличение уровня экспрессии защитных генов (WRKY, PAL, PUB22). С помощью агробактериальной трансформации листьев *Nicotiana benthamiana* нам удалось синтезировать выявленную в транскриптоме Е3-убиквитин-лигазу, которая была способна снижать содержание и подавлять активность рецептора LYK9. С помощью скрининга библиотек и анализа в дрожжевой дигибридной системе нам удалось выявить фосфатазы, которые потенциально могут взаимодействовать с МАРКК6. Нами впервые был выявлен LysM-содержащий рецептор LYK11, способный узнавать Nod-факторы и подавлять иммунный ответ со стороны растений. Локализация активности промотора гена рецептора LYK11 и его геномное редактирование позволит выявить его функции при развитии бобово-ризобиального симбиоза.

Выводы: Было установлено, что Nod-факторы ризобий способны подавлять избыточное образование АФК, а также активировать гены убиквитин-лигаз и фосфатаз, влияющие на стабильность ППР и МАР-киназ, что лежит в основе подавления иммунного ответа со стороны растений. Был впервые выявлен рецептор, способный при узнавании Nod-факторов подавлять иммунный ответ у растений гороха при бобово-ризобиальном симбиозе.

Финансирование: РНФ № 24-16-00180.