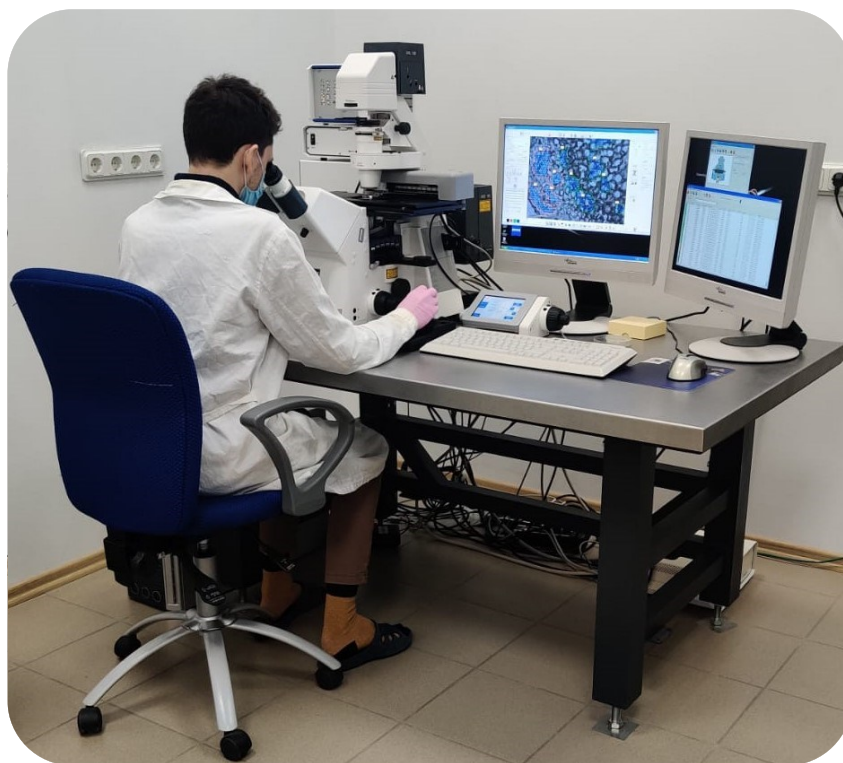


**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии»**



ПРОГРАММА и СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**IV школы-конференции для молодых ученых
«Молекулярно-генетические и клеточные аспекты
растительно-микробных взаимодействий»**



25 декабря 2020 г.

Санкт-Петербург онлайн

УДК 579.262
ББК 28.4я43
П78

П78 **ПРОГРАММА и СБОРНИК ТЕЗИСОВ IV школы-конференции для молодых ученых «Молекулярно-генетические и клеточные аспекты растительно-микробных взаимодействий».** – М.: Издательство «Перо», 2020. – Мб. [Электронное издание]

ISBN 978-5-00171-787-4

IV школа-конференция для молодых ученых «Молекулярно-генетические и клеточные аспекты растительно-микробных взаимодействий» посвящена обсуждению актуальных проблем исследования молекулярных механизмов взаимодействий «симбионт-хозяин» и «патоген-хозяин». В ее рамках молодые ученые, студенты и аспиранты ознакомятся с последними научными достижениями в области изучения растительно-микробных взаимодействий, прослушав лекции ведущих ученых в данной области, и представят свои доклады. В данном сборнике опубликованы тезисы докладов и программа IV школы-конференции для молодых ученых «Молекулярно-генетические и клеточные аспекты растительно-микробных взаимодействий». Мероприятие проводится при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-920 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

ISBN 978-5-00171-787-4

УДК 579.262
ББК 28.4я43

© Авторы, 2020

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ IV ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ

Председатель

д.б.н. Цыганов Виктор Евгеньевич

Члены оргкомитета

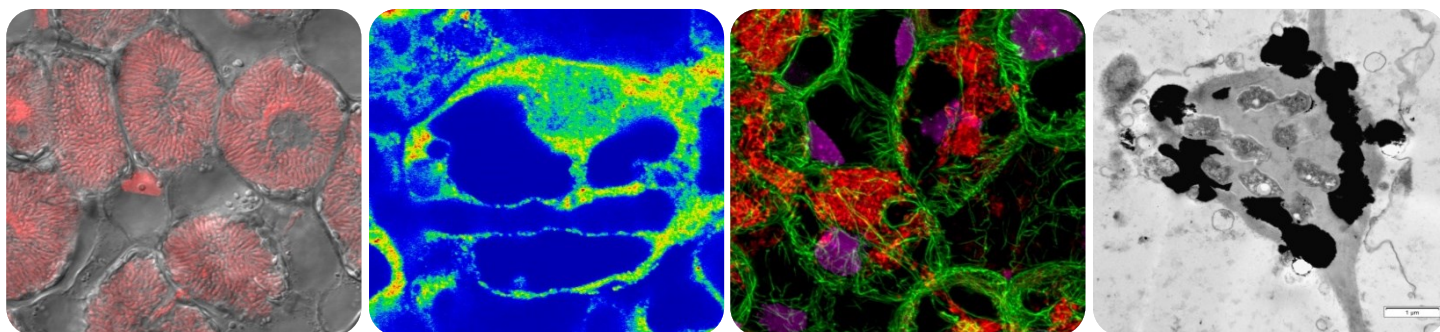
д.б.н. Проворов Николай Александрович

к.б.н. Жуков Владимир Александрович

к.б.н. Андронов Евгений Евгеньевич

к.б.н. Нижников Антон Александрович

Мероприятие проводится при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-920 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».



ПРОГРАММА IV ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ

9 00 Открытие школы-конференции

9 20 д.б.н., проф., академик РАН **Игорь Анатольевич Тихонович** «Актуальные вопросы создания и регуляции функционирования микробно-растительных систем»

10 00 к.б.н. **Антон Александрович Нижников** «Разнообразие свойств и функций амилоидных белков растений»

10 30 д.б.н. проф. **Юрий Викторович Гоголев** «Метагеномные и метатранскриптомные исследования патокомплексов растений»

11 00 – 11 15 кофе-брейк

11 15 к.б.н. **Владимир Александрович Жуков** «Генетические и экологические аспекты симбиотической эффективности гороха посевного»

11 45 д.б.н. **Николай Александрович Проворов** «Симбиогенетика в развитии: от генетического анализа к генетическому синтезу»

12 15 к.б.н. **Евгений Евгеньевич Андронов** «Микробная экология и бобово-ризобиальный симбиоз: растение как окружающая среда для микроорганизмов»

12 45 д.б.н. проф. **Татьяна Валерьевна Матвеева** «Размышления о генах синтеза опинов»

13 15 д.б.н. **Виктор Евгеньевич Цыганов** «Поздние стадии развития симбиотического клубенька»

13 45 – 14 45 обед

14 45 **Бойцова М.Д.** «Метагеномная характеристика микробных сообществ памятника палеолитической культуры пещеры Шульган-Таш (Каповой)»

15 00 **Зорин Е.А.** «Транскриптомный анализ событий дифференциального альтернативного сплайсинга в корнях гороха посевного (*Pisum sativum* L.), индуцируемых инокуляцией грибом арбускулярной микоризы *Rhizophagus irregularis*»

15 15 **Жидкин Р.Р.** «*RolB/C*-подобный ген у голубики»

15 30 **Кусакин П.Г.** «Транскриптомный анализ симбиотических клубеньков гороха (*Pisum sativum*) с использованием лазерной микродиссекции»

15 45 **Хафизова Г.В.** «КЛТ-ДНК как маркер для реконструкции филогении в пределах вида *Nicotiana tabacum*»

16 00 **Сайганова М.А.** «Транскриптомный анализ сайтов инициации транскрипции *Escherichia coli* K12 MG1655 методом Capable-Seq»

16 15 **Горшков А.П.** «Влияние фунгицида ТМТД как стрессового фактора на ультраструктуру симбиотических клубеньков гороха (*Pisum sativum* L.)»

16 30 **Афонин А.М.** «Использование технологии Oxford Nanopore в изучении симбиозов гороха посевного»

16 45 **Косолапова А.О.** «Амилоидные белки наружной мембраны клубеньковых бактерий»

17 00 **Шиков А.Е.** «Роль событий рекомбинации в определении специфичности в отношении вида хозяина в токсинах *Cry B. thuringiensis*»

17 15 **Заккрытие школы-конференции**

СБОРНИК ТЕЗИСОВ IV ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ

Актуальные вопросы создания и регуляции функционирования микробно-растительных систем

Тихонович И.А.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: igor.tikhonovich49@mail.ru

Одной из наиболее впечатляющих побед современной биологии является возможность работать со всем объемом генетической информации, которая содержится в живущих на Земле микроорганизмах, и идентификация всего их многообразия. Особенно это важно для создания микробно-растительных систем (МРС), в которых генетические системы про- и эукариот функционально интегрируются, создавая, по сути, новый организм с признаками, которыми не обладали партнеры до взаимодействия. Школа симбиогенетиков берет свое начало из исследований блестящих универсантов К.С.Мережковского, А.С. Фаминцина, С.П.Костычева и др. которые видели во взаимодействии микроорганизмов и растений фундаментальный процесс эволюции и поддержания всего живого. В настоящий момент мы можем констатировать, что симбиогенетика стала важной фундаментальной дисциплиной, ряд положений которых будут рассмотрены в ходе нашей школы.

Например, принцип дополнительности геномов при формировании МРС. Узнавание партнерами друг друга – это сложный многоступенчатый процесс, многие детали которого по-прежнему остаются загадочными. Наиболее актуальными в этом смысле являются механизмы интеграции симбиотических генных сетей в общие системы организма, причем специфические гены-регуляторы процесса симбиотической азотфиксации оказываются универсальными для других типов взаимодействия, что открывает широкие возможности для создания новых МРС путем введения симбиотических генов в небобовые растения.

За последнее время удалось значительно продвинуться в понимании системных процессов регуляции симбиотических взаимодействий. Здесь можно рассматривать по крайней мере два процесса – это сигнальный каскад на длительном расстоянии и регуляция дифференцировки бактерий на основе NCR пептидов. Возможным следствием данных работ может стать открытие новых способов регуляции активности генов.

Наконец, в этом же плане следует упомянуть и «хостинг» временных органелл в клетках растений, который стало возможным детально характеризовать на основе организации тубулинового цитоскелета и симбиотических структур в клетках клубеньков.

Эти краткие заметки далеко не исчерпывают вопросов, которые будут рассмотрены на начинающейся школе, и я желаю слушателям интересной и продуктивной работы.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-922 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Метагеномные и метатранскриптомные исследования патокомплексов растений

Гоголев Ю.В.^{1,2}, Сайганова М.А.², Бойцова М.Д.², Балкин А.С.³, Горшков В.Ю.^{1,2}

¹Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия;

²Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия,

³Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, УрО РАН, Оренбург, Россия

E-mail: gogolev.yuri@gmail.com

Разработка современных геномных технологий открывает новые возможности для решения многих задач фитопатологии. Для внедрения и отработки данных технологий нами были взяты в качестве объекта «снежные плесени» озимых зерновых культур и «черная ножка» картофеля. Был использован метод метагеномного баркодинга растений ржи, пораженной снежной плесенью в полевых условиях. Проведенный анализ позволил нам выделить изоляты грибов, являющихся кандидатами основных возбудителей снежной плесени злаков в исследуемом регионе. Большинство выделенных изолятов, были отнесены к роду *Microdochium* и распределены по трем генетическим группам (1). Для представителей этих групп проведено полногеномное секвенирование с использованием платформ Illumina HiSeq 2500 и Oxford Nanopore MinION. Анализ полученных последовательностей позволит получить информацию о фитопатогенном потенциале данных микроорганизмов.

Пектобактерии относятся к наиболее вредоносным возбудителям заболеваний растений. Используя технологию высокопроизводительного секвенирования (RNA-Seq) нами были детально проанализированы транскриптомы бактериального и растительного компонентов модельной патосистемы *Pectobacterium atrosepticum* – *Nicotiana tabacum* при различных сценариях инфицирования. Это позволило нам описать общую картину физиологии паразита и хозяина в ходе развития мягкой гнили. Было выявлено более восьми тысяч дифференциально экспрессированных генов (DEG) у зараженных и контрольных растений. Применение различных баз данных и вычислительных подходов позволило нам выполнить достаточно подробное их описание (2). Однако, наиболее сложной задачей является изучение бактериального транскриптома в процессе развития инфекции. Среди дифференциально активируемых генов бактерий ожидаемо были выявлены такие как ферменты деградации клеточной стенки растений (PCWDE) и эффекторы систем внутриклеточной секреции. Кроме того, были выявлены новые факторы вирулентности, к которым относятся сигналы манипуляции растением и синтез токсинов из группы фосфонатов (3). Благодаря применению новых подходов в транскриптомных исследованиях нам удалось так же провести анализ дифференциальной экспрессии некодирующих РНК бактерий в инфицированных растениях.

1. Gorshkov V., Osipova E., Ponomareva M., et al. Rye Snow Mold-Associated *Microdochium nivale* Strains Inhabiting a Common Area: Variability in Genetics, Morphotype, Extracellular Enzymatic Activities, and Virulence. *J. Fungi*, 2020, 6, 335.
2. Tsers I., Gorshkov V., Gogoleva N., et al. Plant Soft Rot Development and Regulation from the Viewpoint of Transcriptomic Profiling. *Plants*, 2020, 9, 1176.
3. Gorshkov V., Gubaev R., Petrova O., et al. Transcriptome profiling helps to identify potential and true molecular switches of stealth to brute force behavior in *Pectobacterium atrosepticum* during systemic colonization of tobacco plants. *Eur J Plant Pathol*, 2018, 152(4), 957-976.

Разнообразие свойств и функций амилоидных белков растений

Нижников А.А.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Россия, Санкт-Петербург;

²Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург

E-mail: a.nizhnikov@arriam.ru

Амилоидами называют белковые фибриллы с особой пространственной структурой, придающей им уникальную стабильность и упорядоченность. Патологические амилоиды, образующиеся в результате нарушения укладки нормальных белков, являются причиной развития более сорока преимущественно неизлечимых заболеваний человека и животных, в то время как функциональные амилоиды вовлечены в выполнение различных биологических процессов у архей, бактерий и эукариот. Нами открыты функциональные амилоидные белки растений, в частности, показана их роль в запасании и стабилизации запаса белка в семенах [1]. Амилоидные свойства *in vivo* показаны нами для запасного белка семян посевного гороха *Pisum sativum* L., однако биоинформатические данные свидетельствуют в пользу того, что амилоидогенез запасных белков является эволюционно-консервативным свойством глобулинов семян, имеющих в своем составе полифункциональные домены из древнего суперсемейства Cupin [2].

Недавние, еще не опубликованные данные, полученные нами, показывают, что амилоидными свойствами обладают различные глобулины семян гороха, а особенности их локализации и влияния на патогенные микроорганизмы свидетельствуют в пользу того, что растительные амилоиды могут участвовать не только в запасании белка, но и в защите от патогенов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-16-01100.

[1]. Antonets K.S., Belousov M.V., Sulatskaya A.I., Belousova M.E., Kosolapova A.O., Sulatsky M.I., Andreeva E.A., Zykin P.A., Malovichko Y.V., Shtark O.Y., Lykholay A.N., Volkov K.V., Kuznetsova I.M., Turoverov K.K., Kochetkova E.Y., Bobylev A.G., Usachev K.S., Demidov O.N., Tikhonovich I.A., Nizhnikov A.A. Accumulation of storage proteins in plant seeds is mediated by amyloid formation // PLOS Biology, 2020, V.18(7), e3000564.

[2]. Antonets K.S., Nizhnikov A.A. Predicting amyloidogenic proteins in the proteomes of plants // International Journal of Molecular Sciences, 2017, V.18, e2155.

Генетические и экологические аспекты симбиотической эффективности гороха посевного

Жуков В.А., Афонин А.М., Ахтемова Г.А., Жернаков А.И., Зорин Е.А., Кулаева О.А., Романюк Д.А., Сулима А.С., Штарк О.Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

E-mail: vzhukov@arriam.ru

Горох посевной (*Pisum sativum* L.), подобно другим бобовым растениям, образует симбиозы с клубеньковыми бактериями, грибами арбускулярной микоризы и рост-стимулирующими бактериями. Существуют генотипы гороха, в большей или меньшей степени склонные к образованию симбиозов и реагирующие на инокуляцию полезными микроорганизмами различным образом. Молекулярно-генетические основы этих различий на данный момент изучены недостаточно.

С использованием созданных нами математических моделей был описан фенотип серии генотипов гороха с различной степенью симбиотической отзывчивости (т.е. способности увеличивать массу семян под влиянием инокуляции микросимбионтами. Было продемонстрировано, что габитус растения, определяемый аллельным состоянием гена *Le* (влияющего на длину стебля), оказывает влияние на способность растений к накоплению фосфора в семенах при формировании арбускулярно-микоризного симбиоза, и накоплению азота в семенах при формировании азотфиксирующих клубеньков.

Было проведено транскриптомное секвенирование корневых систем восьми генотипов, контрастных по симбиотической отзывчивости. Сравнение транскриптомных профилей показало, что у “отзывчивых” генотипов по сравнению с “неотзывчивыми” при совместной инокуляции арбускулярно-микоризными грибами и клубеньковыми бактериями повышена экспрессия генов, связанным с синтезом липидов и флавоноидов, а также с ответом на внешние стимулы. Таким образом, “отзывчивые” генотипы, очевидно, более активно взаимодействуют с грибами арбускулярной микоризы, чем “неотзывчивые” генотипы, и выявленные дифференциально экспрессирующиеся гены могут являться маркерами успешного развития растений при микоризации.

Дальнейшая работа по идентификации молекулярных маркеров, ассоциированных с проявлением признака “симбиотической отзывчивости”, будет являться задачей последующих исследований, направленных на создание принципиально новых сортов культурных бобовых, которые успешно и эффективно взаимодействуют с микроорганизмами.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-920 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Симбиогенетика в развитии: от генетического анализа к генетическому синтезу

Проворов Н.А.¹, Тихонович И.А.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский госуниверситет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: provorovnik@yandex.ru

Симбиогенетика представлена как новая дисциплина, предметом которой являются надвидовые системы наследственности, возникающие в ходе коэволюции неродственных организмов. Возникновение симбиогенетики восходит к трудам А. де Бари [1], который рассматривал симбиоз как аналог полового процесса, и К.С. Мережковского [2], который дал генетическое обоснование теории симбиогенного происхождения растительной клетки.

Развитие симбиогенетики открывает принципиально новые возможности для познания природы изменчивости и наследственности, дополняя традиционную методологию генетического анализа подходами “генетического синтеза”, который необходим для выяснения механизмов функциональной и структурной интеграции систем наследственности неродственных организмов [3]. Коэволюция организмов, образующих основные типы надвидовых систем наследственности – метагеномы, симбиогеномы и хологеномы (симбиогенез в широком смысле слова), приводит к образованию новых форм жизни и новых экологических отношений. Его механизмы выходят далеко за рамки канонических представлений об эволюции, развиваемых теорией естественного отбора.

К числу феноменов, описываемых симбиогенетикой, относятся:

- а) межвидовой альтруизм, связанный с отказом микросимбионтов от автономного существования, а затем и от генетической индивидуальности – способности к самостоятельному поддержанию и экспрессии генома;
- б) наследование микросимбионтов как генетических детерминант, благоприобретённых хозяином и преобразуемых в элементы его генома (пангенезис);
- в) возникновение безгеномных клеток, сохранивших базовые жизненные функции – размножение и обмен веществ, которые осуществляются на основе генных продуктов, поступающих от партнера по симбиозу.

1. de Bary A., 1879. Die Erscheinung der Symbiose. Strassburg: Verlag Von K.J. Trübner.

2. Mereschkowsky C., 1905. Biol. Centralbl. 25:593-604.

3. Тихонович И.А., Проворов Н.А., 2012. Генетика. 48:437-450.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-920 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Микробная экология и бобово-ризобиальный симбиоз: растение как окружающая среда для микроорганизмов

Андронов Е.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург,

Россия

E-mail: eeandr@gmail.com

Со времени, когда Бейеринк (Баас Бекинг) сформулировали «Everything is everywhere...», прошло почти 100 лет. С тех пор было проведено множество исследований того, как окружающая среда формирует микробиомы, продемонстрировавших с разной степенью ясности связи между факторами окружающей среды и таксономической/функциональной структурой природных микробиомов. Однако существует система, в которой как факторы окружающей среды, так и гены, ответственные за взаимодействие с этими факторами, четко определены. Эта система называется бобово-ризобиальным симбиозом, который также связан с именем Бейеринка, потому что он был не только первым ученым, который выделил бактерии из корневого клубенька, но на самом деле был автором их названия «ризобии». Примечательной особенностью этого симбиоза является то, что растение играет роль среды обитания для ризобий, и генетический контроль некоторых «факторов окружающей среды» и микробных генов, ответственных за взаимодействие с «средой», хорошо известен. На данных, полученных из глубоко секвенированных библиотек генов растений и ризобиальных симбиотиков, мы покажем, что существует тесная связь между генетическими структурами различных популяций растений-хозяев бобовых и популяциями ризобий, которые они содержат. Они в буквальном смысле «отражают» друг друга не только с точки зрения нуклеотидного разнообразия, но и топологически: филогенетическое древо почвенной популяции ризобий топологически трансформируется при переходе от почвы к растению, становясь сходным с деревом растения-рецептора. Для описания последнего эффекта мы вводим новый тип разнообразия «топологическое β -разнообразие». Весь процесс был обозначен как «экологический / эволюционный прессформинг», где среда и микробиом играют роль жесткой пресс-формы и формируемого вещества. Приведенные данные свидетельствуют о том, что симбиоз является экстремальной моделью микробной экологии.

При поддержке гранта РФФИ 19-16-00081.

Размышления о генах синтеза опинов

Матвеева Т.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: radishlet@gmail.com

Первые упоминания об опидах относятся к началу 20 века. Тогда у морских беспозвоночных (в частности у осьминога) было выделено вещество – октопин. (Morizawa, Kiyoshi, 1927). Позже было показано, что у головоногих моллюсков октопин образуется при анаэробном окислении глюкозы. Однако опины есть не только у беспозвоночных, но и у бактерий, грибов, растений. Наиболее изучены опины, образующиеся в ходе заражения растений агробактериями. Опины из корончатых галлов и волосистых корней выполняют иную роль и включают более разнообразные соединения. Их определение стало скорее функциональным, чем структурным. Опины, вырабатываемые растениями как результат экспрессии генов Т-ДНК, были определены как штаммоспецифические метаболиты, которые могут быть обнаружены в корончатом галле и волосистом корне и могут разлагаться соответствующими штаммами бактерий (Владимиров и др., 2015).

Недавно стало известно, что значительная часть покрытосеменных растений содержит интактные гены синтеза опинов, полученных в результате агробактериальной трансформации, в ходе их эволюции (Matveeva and Otten, 2019), и что некоторые растения действительно производят опины, например, некоторые сорта табака и *Cuscuta suaveolens*. В настоящее время требуется систематизация наших знаний о генах синтеза опинов различных организмов и их филогенетических связях, чему и будет посвящен доклад.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-922 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

1. Matveeva, T.V. & Otten, L. (2019) Widespread occurrence of natural genetic transformation of plants by Agrobacterium Plant Mol Biol 101: 415. <https://doi.org/10.1007/s11103-019-00913-y>
2. Morizawa, Kiyoshi (1927). "The extractive substances in Octopus octopodia". Acta Scholae Medicinalis Universitatis Imperialis in Kioto. 9: 285–298.
3. Владимиров И. А., Матвеева Т. В., Лутова Л. А. (2015) Гены биосинтеза и катаболизма опинов. Генетика, 51(2) : 137–146

Поздние стадии развития симбиотического клубенька

Цыганов В.Е.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский научный центр РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: vetsyganov@arriam.ru

Бобовые растения, взаимодействуя с ризобиями, формируют на корнях симбиотические клубеньки, которые являются специализированными органами растения, в которых происходит фиксация азота. В ходе развития симбиотического клубенька ризобии дифференцируются в специализированную для азотфиксации форму – бактериоиды. Бактериоиды, окруженные симбиосомной мембраной растительного происхождения, формируют органелло-подобные структуры – симбиосомы. Дифференцировка инфицированной растительной клетки сопровождается реорганизацией элементов тубулинового и актинового цитоскелета, направленной на создание условий для значительного увеличения клетки в объеме и распределения клеточных органелл и симбиосом в клетке. Реорганизация тубулинового цитоскелета была показана для различных видов бобовых растений, формирующих как детерминированные (с ограниченной активностью меристемы), так и для недетерминированных клубеньков (с продолжительной активностью меристемы, и как следствие, характеризующихся формированием гистологической зональности). Дифференцировка инфицированной клетки сопровождается также значительными транскрипционными изменениями, что было показано при анализе транскрипционных профилей в клетках, выделенных с помощью лазерной микродиссекции, из различных гистологических зон клубенька гороха посевного (*Pisum sativum* L.), формирующего клубеньки недетерминированного типа.

Фитогормональная регуляция играет ведущую роль в развитии симбиотических клубеньков. Например, у гороха гиббереллины и цитокинины играют позитивную роль в функционировании клубеньков, а этилен и абсцизовая кислота являются негативными регуляторами, стимулируя окончание функционирования клубеньков и переход их к старению, направленному на реутилизацию питательных веществ. С увеличением возраста клубеньков в их базальной части формируется сапрофитная зона, в которой ризобии, высвобождаются из инфекционных нитей и переходят к сапрофитному образу жизни.

Работа поддержана РФФ 16-16-10035.

Метагеномная характеристика микробных сообществ памятника палеолитической культуры пещеры Шульган-Таш (Каповой)

Бойцова М.Д.¹, Гоголева Н.Е.,^{1,2} Гоголев Ю.В.^{1,2}

¹Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия,

²Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", Казань, Россия

E-mail: boytsova1808@gmail.com

Некультивируемые микроорганизмы представляют большую часть биоразнообразия на Земле. Для их выявления необходимо использовать современные методические подходы, такие как метатаксономика. Эти методы анализа коллективного генома и филогенетических отношений микробного сообщества позволяют ответить на фундаментальные вопросы микробиологии и экологии.

Исследование пещер дает возможность расширить знания о биологической адаптации к условиям окружающей среды, взаимоотношениях между живыми организмами и неживой природой, а также эволюции и видообразования. Пещера Шульган-Таш является уникальным природным объектом для изучения мультивидовых биоплёнок, поскольку она представляет собой резервуар эндемичных организмов.

Целью нашей работы является определение таксономической структуры бактериальных биопленок подземного озера пещеры Шульган-Таш. Образцы биоплёнок фиксировали на месте, добавляя небольшое количество окружающей воды, а затем консервирующий раствор RNeasy (Invitrogen). Выделение тотальной ДНК проводили с помощью набора Power Biofilm (Qiagen) и готовили ДНК-библиотеки с применением одношаговой ПЦР-амплификации варибельного участка V4 гена 16S рРНК. Секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq. Очищенные последовательности (пакет BBDuk) обрабатывали с использованием алгоритма dada2. Таксономию определяли с использованием подхода ASV, классификатора RDP, выполненного на базе данных SILVA для бактерий и архей. Визуализацию проводили на веб-сервере MicrobiomeAnalyst с использованием Marker Data Profiling, включая вычисление индексов Chao1 и Симпсона для отображения альфа-разнообразия, а также вычисление бета-разнообразия с использованием метрики Брея-Кёртиса.

В результате анализа были получены диаграммы, отражающие таксономическое разнообразие биоплёнок. Интересным результатом оказалось то, что значительную часть биоплёнок составили неклассифицируемые микроорганизмы, некоторые из которых, вероятно, представляют неизвестные филумы. Получение изолятов данных микроорганизмов, секвенирование и сборка их геномов поможет расширить наше представление о неизвестных ранее естественных микробных сообществах, не претерпевших значительного антропогенного влияния.

Транскриптомный анализ событий дифференциального альтернативного сплайсинга в корнях гороха посевного (*Pisum sativum* L.), индуцируемых инокуляцией грибом арбускулярной микоризы *Rhizophagus irregularis*

Зорин Е. А., Афонин А. М., Кулаева О. А., Грибченко Э. С., Штарк О. Ю., Жуков В. А.
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

E-mail: ezorin@arriam.ru

Альтернативный сплайсинг (АС) — процесс, приводящий к формированию структурно различающихся мРНК изоформ одного гена, благодаря различным путям процессинга молекул пре-мРНК. Данный механизм также служит для тонкой регуляции экспрессии генов. На данный момент роль АС в симбиозах, формируемых растениями и почвенными микроорганизмами, изучена слабо. В нашей работе выполнен транскриптомный анализ корней гороха посевного (*Pisum sativum* L.), инокулированных грибом АМ (*Rhizophagus irregularis*) с использованием технологии RNAseq и последующим биоинформатическим анализом. Было продемонстрировано, что профили АС очень схожи в микоризованных и контрольных образцах. Удержание интрона является наиболее представленным типом АС (67% от общего количества событий АС). Использование трёх биоинформатических инструментов (SUPPA2, DRIMSeq и IsoformSwitchAnalyzeR) позволило выявить 32 гена, события АС которых специфичны для микоризованных корней. Паттерн АС был верифицирован методом количественной ПЦР в реальном времени для 8 генов, демонстрирующих специфичные для микоризованных корней события АС. Среди них были обнаружены гены, кодирующие белок ингибитор апоптоза, серин/треонин киназу, дегидродолицил дифосфат синтазу и пре-мРНК-сплайсинг фактор DEAN1. В микоризованных корнях гороха экспрессия изоформ этих генов, содержащие в своей последовательности преждевременный стоп-кодон, была значимо повышена. Наконец, из 32 выявленных генов, 23 ортолога *Medicago truncatula* продемонстрировали идентичный гороху паттерн АС. В то же время, у *Arabidopsis thaliana*, являющегося растением, неспособным формировать АМ, только 11 ортологических генов демонстрируют схожую с горохом картину АС.

Работа поддержана РФФ 16-16-00118

***rolB/C*-подобный ген у голубики**

Жидкин Р.Р.¹, Антропов Д.О.², Чиненко С.В.³, Городилова Е.Ю.¹, Матвеева Т.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург,
Российская Федерация

²ГБНОУ «Санкт-Петербургский городской дворец творчества юных», г. Санкт-Петербург,
Российская Федерация

³ФГБУН «Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН», г. Санкт-Петербург,
Российская Федерация

E-mail: zhidkinr@gmail.com

Широко распространенное в прокариотическом мире явление горизонтального переноса генов также наблюдается и у эукариотических организмов. Одним из наиболее изученных таких примеров является перенос генов от бактерии “*Agrobacterium*” *sp.* к растительным организмам. Поскольку в результате агробактериальной трансформации T-DNA переносится в геном реципиента, то в ходе эволюции эти последовательности могут закрепиться в геноме растения. Тогда такие последовательности называются сТ-DNA, а растения – природно-трансгенными.

На сегодняшний день найдено значительное число природно-трансгенных растений. Одним из таких организмов является клюква крупноплодная *Vaccinium macrocarpon*, в геноме которой биоинформатическими методами был найден *rolB/C*-подобный ген агробактериального происхождения.

Поскольку голубика *Vaccinium uliginosum* относится к тому же роду, что и клюква крупноплодная, то целью работы было описание данной последовательности у форм голубики, произрастающих на географическом удалении друг от друга и в разных экологических условиях. Работа проводилась на материале, собранном в следующих географических объектах: Карельский перешеек, Хибинские горы, Ненецкий АО, национальный парк Югыд-ва, плато Путорана, Ленинградская область.

В результате выполнения данной работы во всех проанализированных образцах найдена полноразмерная последовательность *rolB/C*-подобного гена. Причем, обнаруженные последовательности характеризуются низким количеством однонуклеотидных замен, что свидетельствует о стабилизирующем отборе в пользу интактной последовательности изучаемого гена. Данное свидетельство может указывать на возможное функционирование *rolB/C*-подобного гена в геноме *Vaccinium uliginosum*.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-922 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Транскриптомный анализ симбиотических клубеньков гороха (*Pisum sativum*) с использованием лазерной микродиссекции

Кусакин П. Г.¹, Серова Т. А.¹, Гоголева Н. Е.², Гоголев В. Ю.², Цыганов В. Е.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

² Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр РАН», Казанский институт биохимии и биофизики, г. Казань, Россия

E-mail: kussakin@gmail.com

В ходе развития симбиотического клубенька бобовых растений бактерии проникают внутрь клеток растений, где дифференцируются в бактериоды, способные фиксировать атмосферный азот. В растительных клетках при этом также наблюдаются процессы дифференцировки и морфологических изменений. Исследование этих процессов на уровне экспрессии генов представляет большой интерес, таким образом, целью данного исследования являлось изучение изменений транскрипционных профилей, связанных с дифференцировкой инфицированных клеток симбиотического клубенька. Для этого с использованием лазерной микродиссекции из препаратов 11-дневных клубеньков гороха дикого типа SGE были вырезаны клетки из ранней инфекционной зоны, поздней инфекционной зоны, а также зоны азотфиксации. РНК из этих образцов далее была секвенирована с использованием платформы Illumina HiSeq 2500. Полученные прочтения были очищены и картированы на референсный геном гороха. Анализ дифференциально экспрессированных генов ($p\text{-value} < 0,01$; $LFC > |1|$) и анализ функциональных групп проводился для трёх сравнений: (1) клетки поздней зоны инфекции клубенька в сравнении с клетками ранней зоны инфекции; (2) клетки зоны азотфиксации против клеток ранней зоны инфекции; (3) клетки зоны азотфиксации против клеток поздней зоны инфекции. Для данных сравнений были обнаружены различия в экспрессии генов, связанных с ключевыми биологическими процессами в растительной клетке, такими как контроль клеточного цикла, клеточный ответ на гормональную регуляцию, а также метаболизм полисахаридов, что показывает серьёзные изменения в клетках клубеньков при развитии ризобияльной инфекции.

Авторы выражают благодарность Афонину А. М. за предоставленный доступ к референсному геному гороха и помощь в проведении исследования.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-920 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

КлТ-ДНК как маркер для реконструкции филогении в пределах вида *Nicotiana tabacum*

Хафизова Г.В., Городилова Е.Ю., Матвеева Т.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: galina.khafizova@gmail.com

Nicotiana tabacum (культурный табак) — это аллотетраплоид, образованный в результате межвидовой гибридизации *N. sylvestris* и *N. tomentosiformis*. Внутри вида *N. tabacum* в настоящее время выделяют 5 подвидов и множество сортов, для большей части которых не установлено происхождение. Для сортов культурного табака наблюдается широкая вариабельность фенотипов, однако при этом они имеют низкий уровень генетического разнообразия, описанный методами RFLP, RAPD, AFLP (Lewis R., Nicholson J., 2007), что не позволяет уточнить филогенетические отношения в пределах вида *N. tabacum*. *N. tabacum* является природно-трансгенным видом, его геном содержит последовательности, гомологичные агробактериальным T-ДНК - клеточную T-ДНК (клТ-ДНК). В данной работе мы использовали данные последовательности для установления филогении в пределах вида *N. tabacum*. Геном *Nicotiana tabacum* содержит три различающиеся по составу и возрасту клТ-ДНК (ТА, ТВ, TD), полученные от родительского вида *N. tomentosiformis*, ТВ является самой старой вставкой, а ТА – самой молодой. Было показано, что у сортов Basma Drama, Samsoun, и Xanthi в центральной части ТА имеется протяженная (9684 п.н.) делеция, тогда как у других - Wisconsin 38 и Havana 425 - подобной делеции в ТА нет (Chen et al., 2014). Мы провели сравнительный анализ клТ-ДНК и растительных генов в геномах ряда сортов *N. tabacum*. Мы использовали три подхода: анализ полиморфизма растительного гена PMT2, анализ консервативности клТ-ДНК, и анализ структуры ТА. Анализ гена PMT2 позволил отделить сорт Basma Xanthi от сортов K326 и TN90 по найденным нуклеотидным заменам в 1-ом и в 6-ом экзонах, а также по делециям в интронах. Последовательности (гены и межгенные промежутки) выбранные для анализа консервативности клТ-ДНК показали сходство на уровне 99-100% для всех взятых в анализ сортов, в то время как проведенный анализ центральных участков ТА для 11 сортов *N. tabacum* позволил разделить все исследованные образцы на 2 группы: с делецией и без делеции в центральном участке ТА. Причем разделение сортов на разные группы по уровню сходства последовательности гена PMT2 совпало с разделением по наличию/отсутствию делеции в центральном участке клТ-ДНК ТА. Таким образом, структурный полиморфизм клТ-ДНК (ТА) в сортах *N. tabacum* может быть использован для реконструкции филогенетических отношений в пределах данного вида.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-016-00118 с использованием оборудования ресурсного центра «РМКТ» научного парка СПбГУ.

1. Chen et al. Deep sequencing of the ancestral tobacco species *Nicotiana tomentosiformis* reveals multiple T-DNA inserts and a complex evolutionary history of natural transformation in the genus *Nicotiana* // The plant journal. 2014. V. 80. P. 669–682. doi 10.1111/tpj.12661
2. Lewis R., Nicholson J. Aspects of the evolution of *Nicotiana tabacum* L. and the status of the United States *Nicotiana* Germplasm Collection // Genet. Resour. Crop Evol. 2007. V. 54. P. 727–740. doi 10.1007/s10722-006-0024-2

Транскриптомный анализ сайтов инициации транскрипции *Escherichia coli* K12 MG1655 методом Carrable-Seq

Сайганова М.А.¹, Гоголева Н.Е.,^{1,2} Гоголев Ю.В.^{1,2*}

¹Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия,

²Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук», Казань,
Россия

E-mail: gogolev.yuri@gmail.com

В последнее десятилетие ученых волнует вопрос о роли антисмысловой РНК в процессах регуляции экспрессии генов. Несмотря на то, что *E.coli* хорошо изученный модельный организм для проведения экспериментов, точные позиции и количество сайтов инициации транскрипции не известно. Данные элементы важны в масштабах структуры прокариотического генома, так как знание расположения сайтов старта транскрипции поможет в определении промоторов, структуры оперонов, 5' нетранслируемой области и идентификации антисмысловой и некодирующей РНК.

Для точного определения позиций сайтов необходимо извлечь непротрансцендированную РНК с интактным 5' концом, где и расположен сайт старта транскрипции. Было разработано несколько методик, среди которых популярность обрела техника differential SEQ, которая дает возможность селективно секвенировать непротрансцендированные транскрипты. При этом используется фермент TEX (Terminator 5'-Phosphate-Dependent Exonuclease) для специфичной деградации мРНК с 5' монофосфатом. мРНК с трифосфатом на 5' конце остается нетронутая [Sharma, Vogel, 2014].

В наших экспериментах бактерии штамма *E.coli* K12 MG1655 культивировали до достижения середины лаг-фазы, и обрабатывали тремя антибиотиками - тетрациклином, рифампицином и новобиоцином. Были выбраны следующие точки отбора: нулевая (OD₆₀₀ = 0,6) и через 10 минут после добавления антибиотика. Из обработанных и контрольных культур выделяли тотальную РНК, которую использовали для приготовления библиотек Carrable-Seq [Ettwiller et al., 2016].

В основе метода лежит селективное выделение стартовых участков транскрипции РНК, содержащие три остатка фосфорной кислоты, в отличие от протрансцендированной мРНК, содержащей монофосфат или гидроксильную группу на 5' конце. Важной особенностью метода является то, что одновременно происходит очистка от рибосомальной РНК, состоящей до 95% тотальной РНК клетки. Параллельно готовились библиотеки по стандартному протоколу ScriptSeq Complete Kit (Bacteria) (Illumina, Inc.). По результатам секвенирования проведен анализ и сравнение двух методик на эффективность выполнения поставленных задач.

1. Ettwiller L. et al. A novel enrichment strategy reveals unprecedented number of novel transcription start sites at single base resolution in a model prokaryote and the gut microbiome // BMC Genomics. 2016. Т. 17. № 1. С. 1–14.
2. Sharma C. M., Vogel J. Differential RNA-seq: The approach behind and the biological insight gained // Curr. Opin. Microbiol. 2014. Т. 19. № 1. С. 97–105.

Влияние фунгицида ТМТД как стрессового фактора на ультраструктуру симбиотических клубеньков гороха (*Pisum sativum* L.)

Горшков А.П.¹, Цыганова А.В.¹, Цыганов В.Е.^{1,2}

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский научный центр РАН, г. Санкт-Петербург, Россия

E-mail: artemius1993@yandex.ru

В сельскохозяйственном производстве широко применяются различные средства защиты растений, в том числе фунгициды, одним из которых является ТМТД. Ранее было показано, что ТМТД может оказывать негативное влияние на бобово-ризобийный симбиоз, тем не менее, исследования влияния ТМТД на структуру клубеньков не проводились. Целью данного исследования было изучение влияния трех концентраций ТМТД (0,4, 4 и 8 г/кг) на развитие клубеньков у трех генотипов гороха (лабораторные линии Sprint-2 и SGE и сорт «Finale»). У линии SGE ТМТД уменьшал количество клубеньков и массу побегов и корней даже при концентрации 0,4 г/кг. Обработка 8 г/кг ТМТД изменила цвет клубеньков с розового на зеленый, что указывает на старение клубеньков. Просвечивающая электронная микроскопия выявила отрицательное влияние ТМТД на ультраструктурную организацию клубеньков для каждого генотипа. «Finale» показал самую высокую чувствительность к фунгициду, а Sprint-2 показал наибольшую устойчивость к воздействию ТМТД. Негативные эффекты проявлялись в просветлении, набухании и искривлении клеточных стенок, утолщении стенок инфекционных нитей, слиянии симбиосом, деградациии бактериоидов, накоплении полигидроксибутирата (ПОБ) в бактериоидах. Эти результаты демонстрируют необходимость изучения неблагоприятного воздействия сельскохозяйственных пестицидов на бобовые культуры для оптимизации практики использования пестицидов.

Работа поддержана грантом РНФ 16-16-10035.

Использование технологии Oxford Nanopore в изучении симбиозов гороха посевного

Афонин А.М., Грибченко Э.С., Кулаева О.А., Романюк Д.А., Сулима А.С., Жуков В.А.
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-
исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург,
Россия

E-mail: aafonin@arriam.ru

Представитель семейства Бобовые горох посевной (*Pisum sativum* L.) являлся первым модельным организмом для генетики и в настоящее время остается в центре внимания современных исследований взаимодействия растений и микробов. Его способность образовывать симбиоз с множеством микроорганизмов (клубеньковые бактерии, PGPR и микоризные грибы) идеально подходит для изучения общих и уникальных сигнальных и метаболических путей, характерных для растительно-микробных симбиозов. До недавнего времени геном этого растения не был известен, а количество полных геномов бактерии *Rhizobium leguminosarum*, образующей симбиоз с горохом, составляло всего 12.

Целью нашей работы было дополнить базовые знания о симбиозах данными, полученными с помощью технологии Oxford Nanopore. Мы секвенировали и собрали до уровня кольцевых ампликонов более 30 геномов штаммов *R. leguminosarum* с различными симбиотическими свойствами. Геном гороха посевного сорта Frisson был собран с использованием только длинных прочтений (N50 = 5 Mbp, длина генома 3.9 Gbp), и качество этой сборки является самым высоким в мире на настоящий момент. Анализ показал, что 84% генома представлено повторами, причем 50% принадлежит транспозонам семейству Gypsy. Кроме того, геномы обеих растительных органелл (митохондрий и хлоропластов) были собраны в кольцевые контиги.

Используя недавно собранный геном гороха, мы исследовали транскрипционные профили азотфиксирующих клубеньков и микоризованных корней гороха с помощью секвенирования кДНК с помощью Nanopore. Мы смогли провести аннотацию генома и различить транскрипты и изоформы, уникальные для соответствующих симбиозов, улучшив общее качество аннотации генома. Мы показали также, что секвенирование по технологии Oxford Nanopore оказалось мощным методом для быстрой сборки больших, богатых повторами геномов растений, а также может использоваться для выполнения аннотации транскриптомов и изоформ.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-920 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Амилоидные белки наружной мембраны клубеньковых бактерий

Косолапова А.О.^{1,2}, Белоусов М.В.^{1,2}, Белоусова М.Е.^{1,2}, Антоненц К.С.^{1,2}, Нижников А.А.^{1,2*}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Россия, Санкт-Петербург;

²Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург

*E-mail: a.nizhnikov@arriam.ru

Белковые фибриллы с упорядоченной пространственной структурой, обогащенные водородными связями, называют амилоидами. Эти фибриллы вовлечены в развитие целого ряда патологий у человека, а также выполняют жизненно-важные функции у прокариот и эукариот. Наибольшее разнообразие функциональных амилоидов идентифицировано у бактерий, где они выполняют роль структурного компонента биопленок, обеспечивают преодоление поверхностного натяжения жидкостей, запасаения токсинов. Значительное количество амилоидных белков прокариот вовлечены в надорганизменные взаимодействия типа «патоген-хозяин» и связаны с развитием бактериальных инфекций [1]. Данные, полученные нашим исследовательским коллективом совместно с соавторами [2], показывают, что амилоидные белки есть также у симбиотических клубеньковых бактерий, которые формируют мутуалистические взаимодействия с растениями, обеспечивая оптимизацию питания многоклеточного хозяина путем фиксации атмосферного азота. Амилоиды клубеньковых бактерий представлены, по нашим данным, белками наружной мембраны. Так, у бактерии *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* амилоиды образуют белки RopA и RopB. Амилоидные фибриллы этих белков образуются в экстраклеточной капсуле бактерий, формируемой в глубоком стационаре, а количество амилоидов RopA возрастает при стимуляции клеток флавоноидом лютеолином, имитирующем начальные этапы установления растительно-микробного симбиоза. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что амилоиды клубеньковых бактерий могут участвовать в молекулярных механизмах формирования симбиотических взаимоотношений.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 17-16-01100.

[1]. Kosolapova A.O., Antonets K.S., Belousov M.V., Nizhnikov A.A. Biological functions of prokaryotic amyloids in the interspecies interactions: facts and assumptions // International Journal of Molecular Sciences, 2020, V.21, e7240.

[2]. Kosolapova A.O., Belousov M.V., Sulatskaya A.I., Belousova M.E., Sulatsky M.I., Antonets K.S., Volkov K.V., Lykholay A.N., Shtark O.Y., Vasilieva E.N., Zhukov V.A., Ivanova A.N., Zykin P.A., Kuznetsova I.M., Turoverov K.K., Tikhonovich I.A., Nizhnikov A.A. Two Novel Amyloid Proteins, RopA and RopB, from the Root Nodule Bacterium *Rhizobium leguminosarum* // Biomolecules, 2019, V.9, e694.

Роль событий рекомбинации в определении специфичности в отношении вида хозяина в токсинах Cry *B. thuringiensis*

Шиков А.Е.^{1,2}, Маловичко Ю.В.^{1,2}, Нижников А.А.^{1,2}, Антоненц К.С.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Россия, Санкт-Петербург;

²Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург
E-mail: a.shikov@arriam.ru

Бактерия *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) характеризуется высокой степенью специфичности и инсектицидной эффективности и находит применение в производстве биопестицидов. Во многом эти свойства обусловлены кристаллическими токсинами Cry, из которых подсемейство трёхдоменных токсинов является наиболее многочисленным. Тем не менее, некоторые насекомые могут приобретать устойчивость к ним вследствие мутаций в связывающих сайтах рецепторов. Вследствие этого создание новых искусственных инсектицидных белков является очень актуальной задачей. Для конструирования новых инсектицидов необходимо более глубокое понимание молекулярных механизмов эволюции токсинов Cry. Одной из обсуждаемых гипотез является связывание специфичности в отношении выбора хозяина с обменом доменами между последовательностями токсинов. Тем не менее, эта гипотеза основана на эмпирическом сравнении небольших групп последовательностей и не была проверена на большем объёме данных. Для детального изучения эволюции токсинов Cry были выкачаны последовательности, относящиеся к *Bt*, из баз данных IPG (Identical Protein Group) и Genbank соответственно. Трёхдоменные токсины Cry были найдены при помощи разработанного нами инструмента CryProcessor. На основании последовательностей токсинов, а также отдельных доменов, были построены филогенетические деревья, между которыми были выявлены значительные различия. Кроме того, последовательности были проанализированы на предмет наличия событий рекомбинации при помощи программы RDP (Recombination Detection Protocol). В результате было обнаружено более 50 событий, относящихся ко всем трём доменам. Полученные данные позволяют судить о том, что тасовка доменов может служить одним из основных механизмов адаптации токсинов Cry.

Работа выполнена при поддержке РФФ 20-76-10044.



**ПРОГРАММА и СБОРНИК ТЕЗИСОВ
IV школы-конференции для молодых ученых
«Молекулярно-генетические и клеточные аспекты
растительно-микробных взаимодействий»**

Издательство «Перо»
109052, Москва, Нижегородская ул., д. 29-33, стр. 27, ком. 105
Тел.: (495) 973-72-28, 665-34-36
Подписано к использованию 30.12.2020. Объем 1,22 Мбайт.
Электрон. текстовые данные. Заказ 1060.