

Универсальные триггеры стрессовых ответов у цианобактерий

Д.А. Лось

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ
им. К.А. ТУМИРЯЗЕВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИФР РАН)



24.09.2019



цианобактерии



Абиотические стрессоры

Тепло

Засуха

Соль

Осмо

ТМ;
ионы

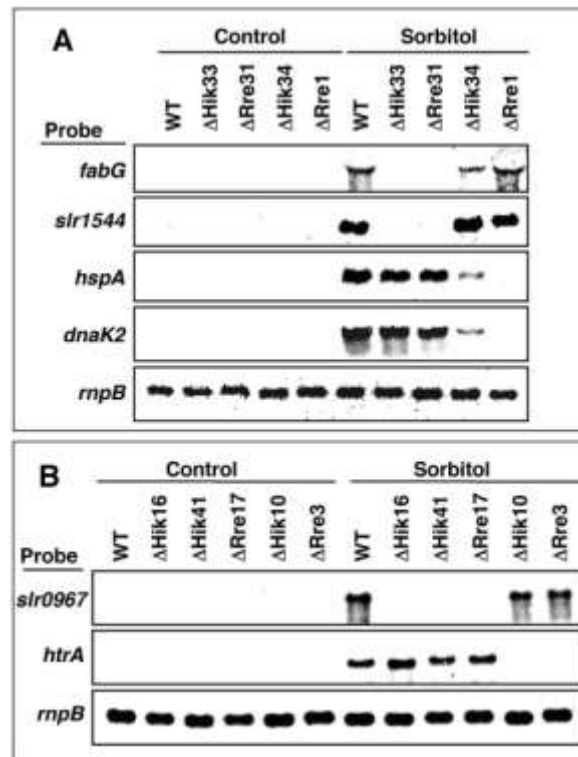
Холод

Свет

Ответ клеток на изменения в окружающей среде

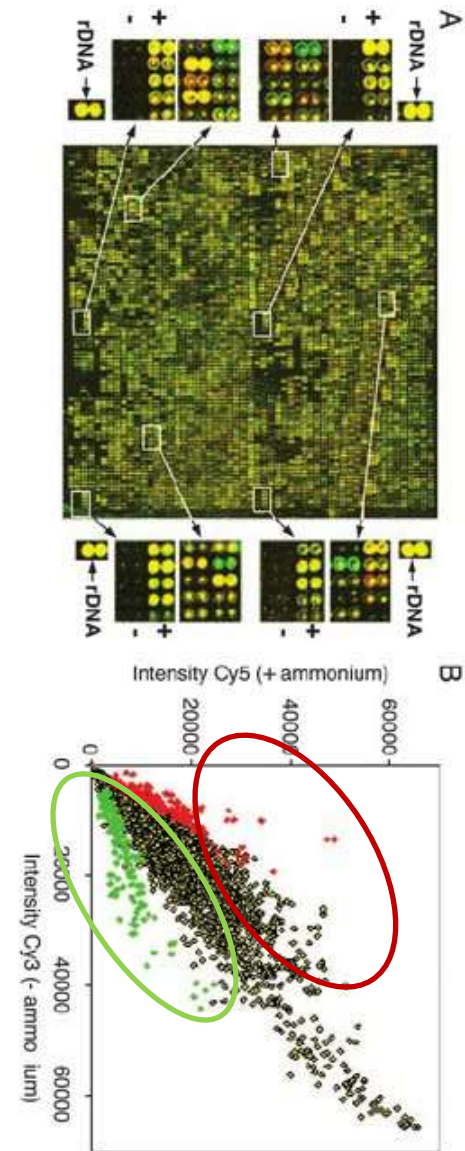
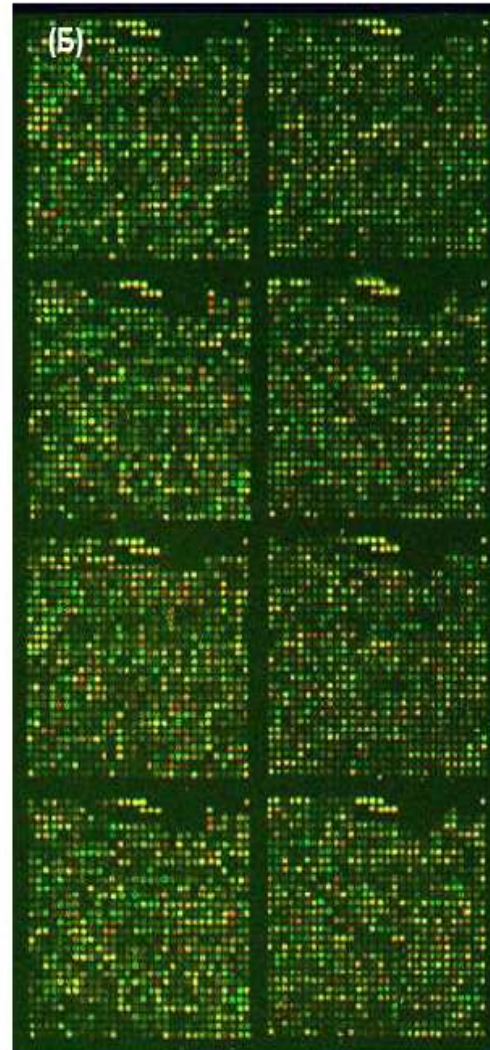
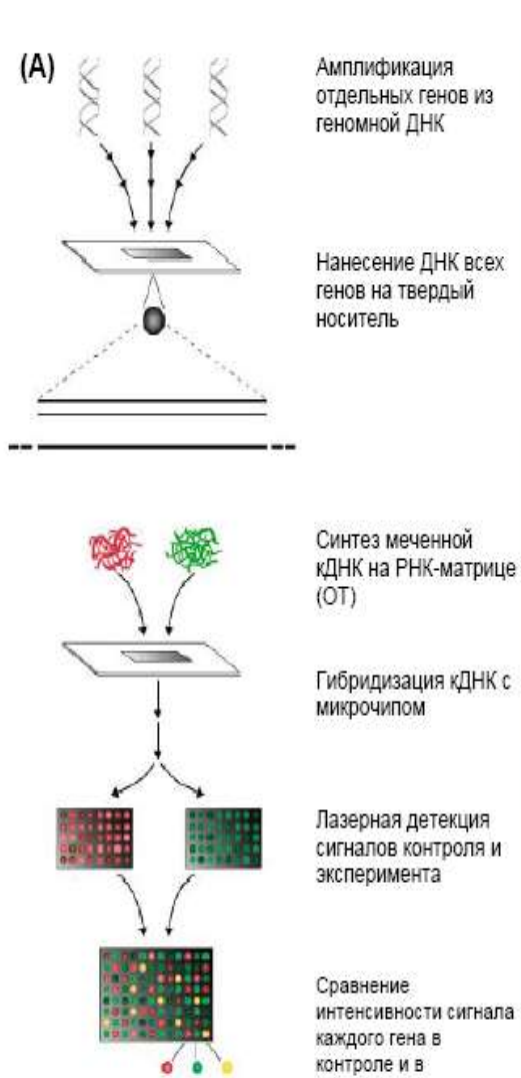


Анализ экспрессии генов с помощью Слот(дот)-блот или нозерн-гибридации



Shumskaya *et al.* (2005) Identical Hik-Rre systems are involved in perception and transduction of salt signals and hyperosmotic signals but regulate the expression of individual genes to different extents in *Synechocystis*. *J. Biol. Chem.* 280: 21531-21538.

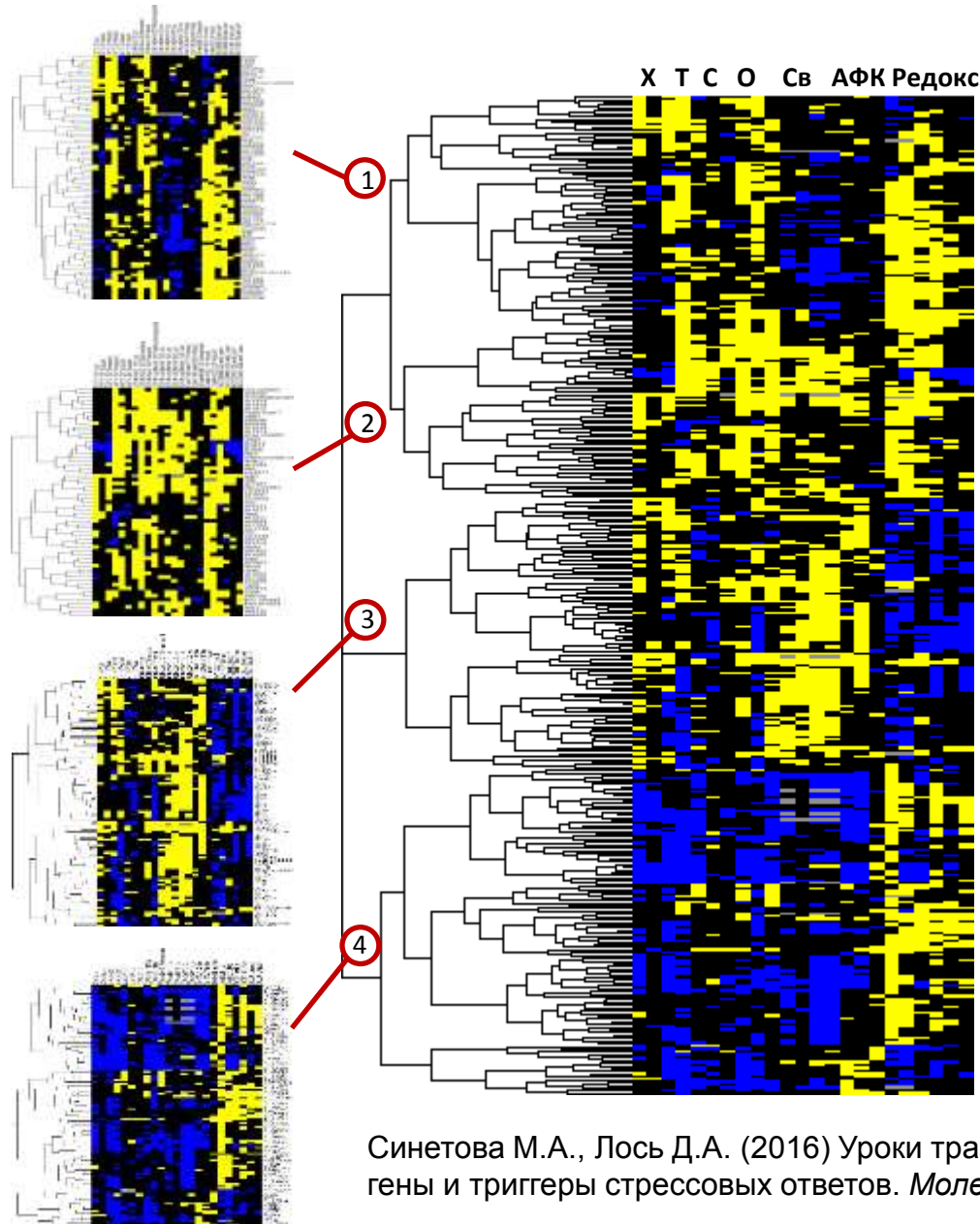
Транскриптом с использованием ДНК-микрочипов



Синетова М.А., Лось Д.А. (2016) Уроки транскриптомики цианобактерий: универсальные гены и триггеры стрессовых ответов. *Молекулярная биология* 50: 685–694.

Sinetova M.A., Los D.A. (2016) Systemic analysis of transcriptomics of *Synechocystis*: common stress genes and their universal triggers. *Molecular BioSystems* 12: 3254–3258.

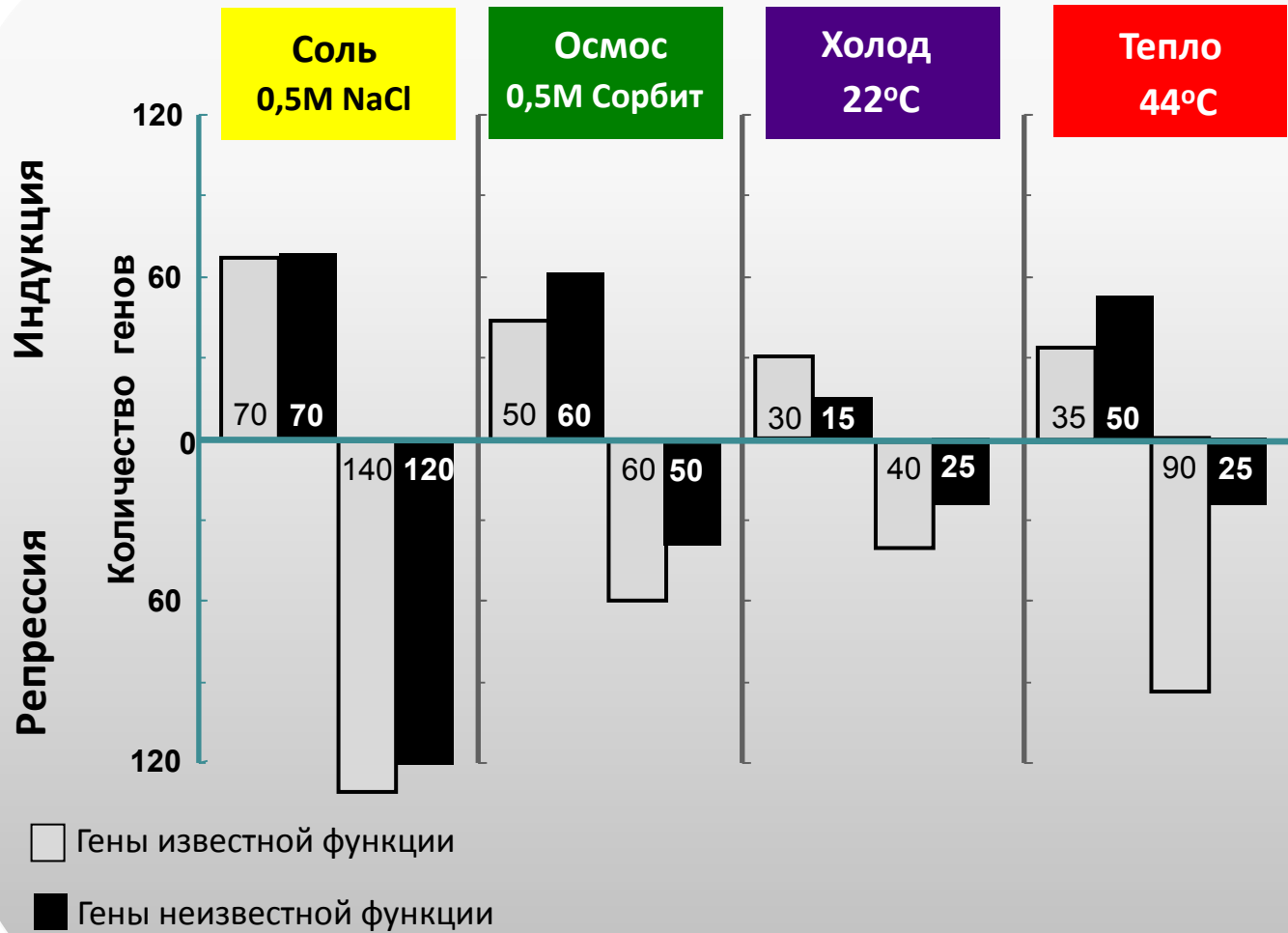
Кластерный анализ генов, индуцированных различными стрессами



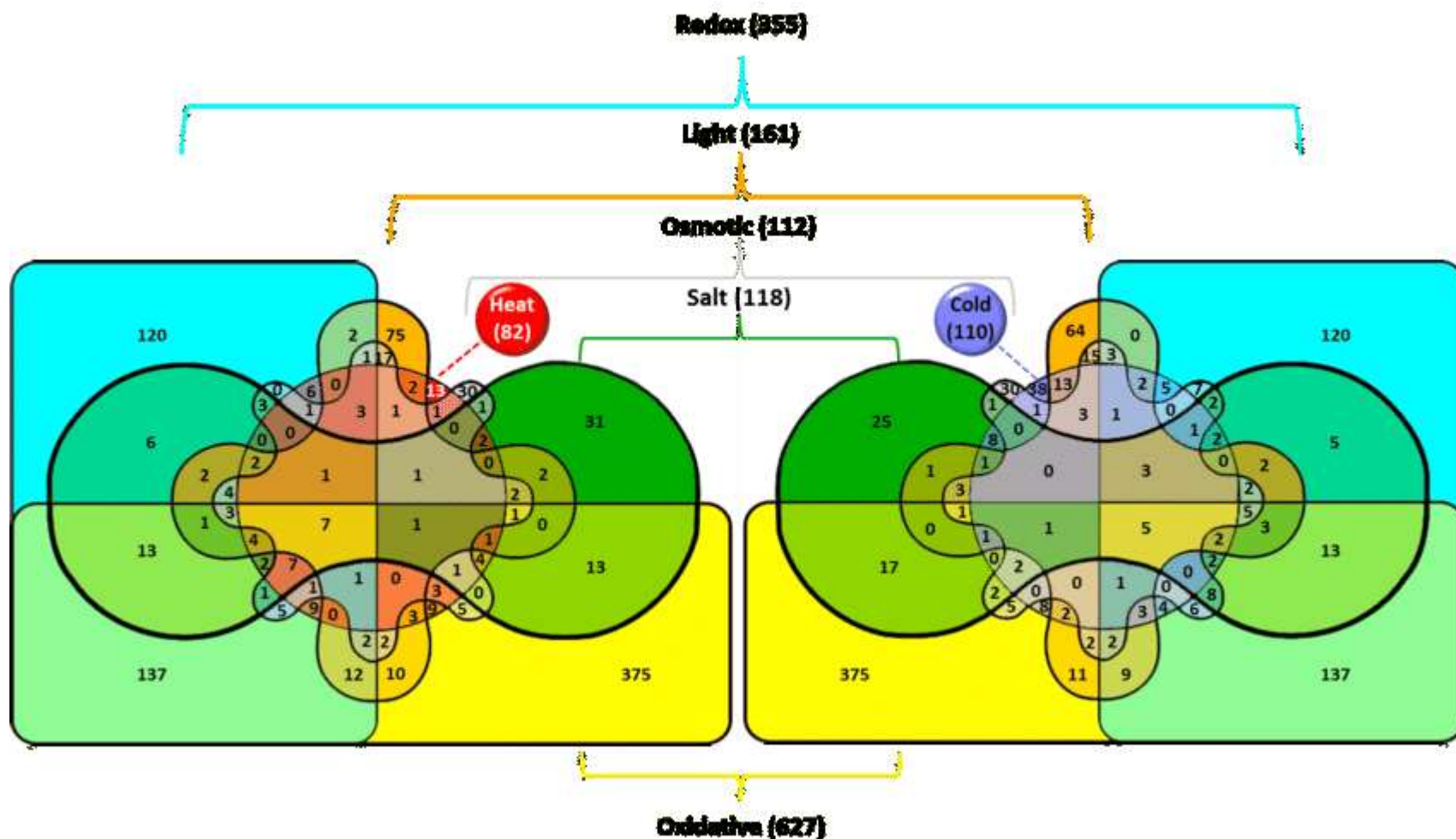
Синетова М.А., Лось Д.А. (2016) Уроки транскриптомики цианобактерий: универсальные гены и триггеры стрессовых ответов. *Молекулярная биология* 50: 685–694.

Sinetova M.A., Los D.A. (2016) Systemic analysis of transcriptomics of *Synechocystis*: common stress genes and their universal triggers. *Molecular BioSystems* 12: 3254–3258.

Гены стрессовых ответов *Synechocystis*



Диаграммы Венна, показывающие влияние различных стрессоров на индукцию транскрипции генов *Synechocystis*



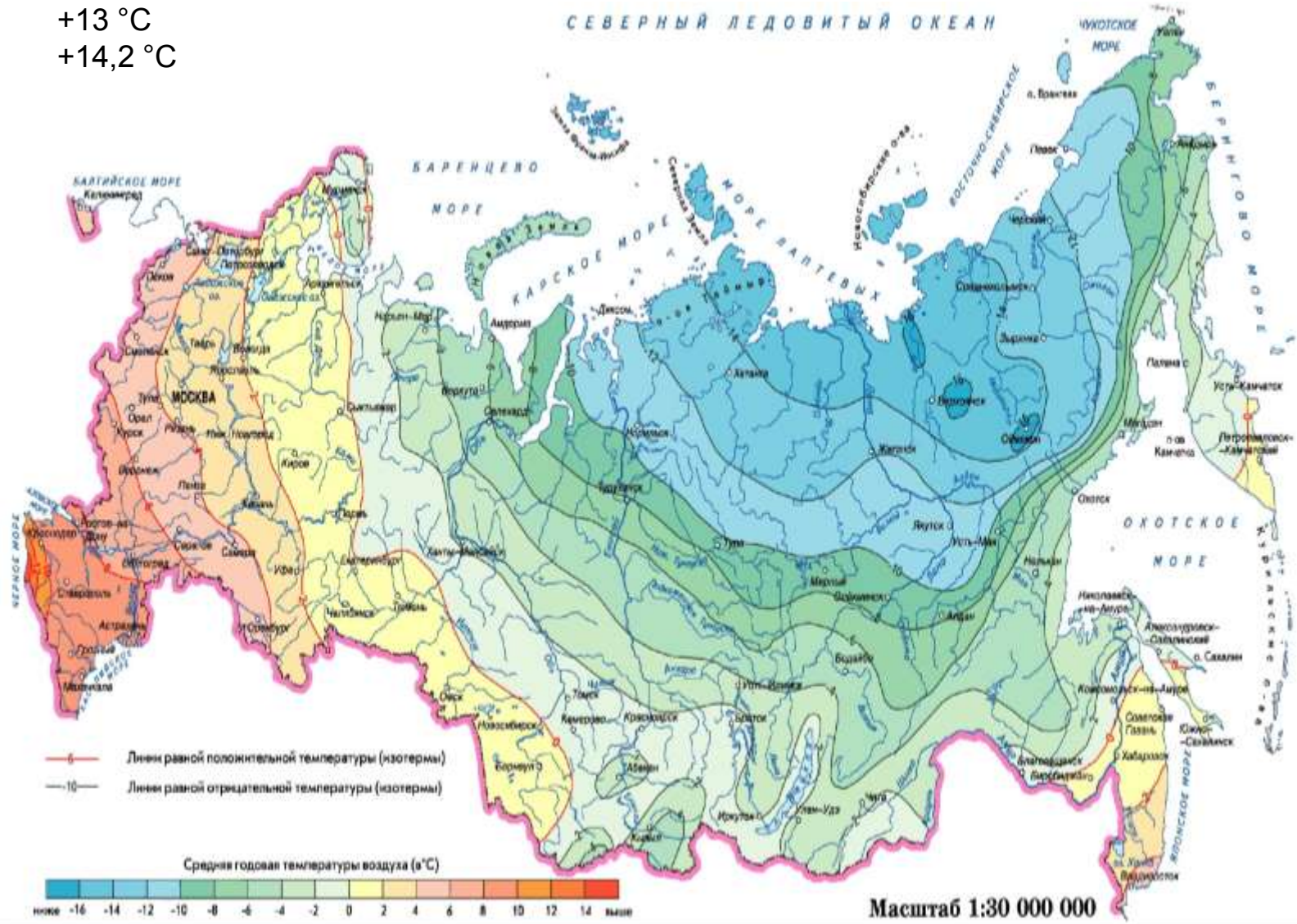
Sinetova & Los (2016) Systemic analysis of transcriptomics of *Synechocystis*: common stress genes and their universal triggers. *Molecular BioSystems* 12: 3254–3258.

Идеальная среднегодовая температура для экономически успешного развития страны = 13°C

Burke *et al.* (2015) Global non-linear effect of temperature on economic production. *Nature* 527: 235–239.

Среднегодовая температура воздуха в **России** составляет $-5.5\text{ }^{\circ}\text{C}$

- Казань +4,6 °C
- Москва +5,8 °C
- Сочи +13 °C
- Ялта +14,2 °C

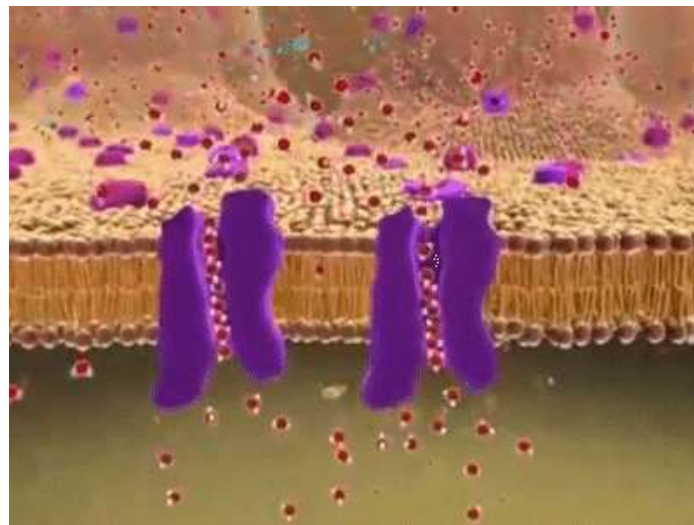
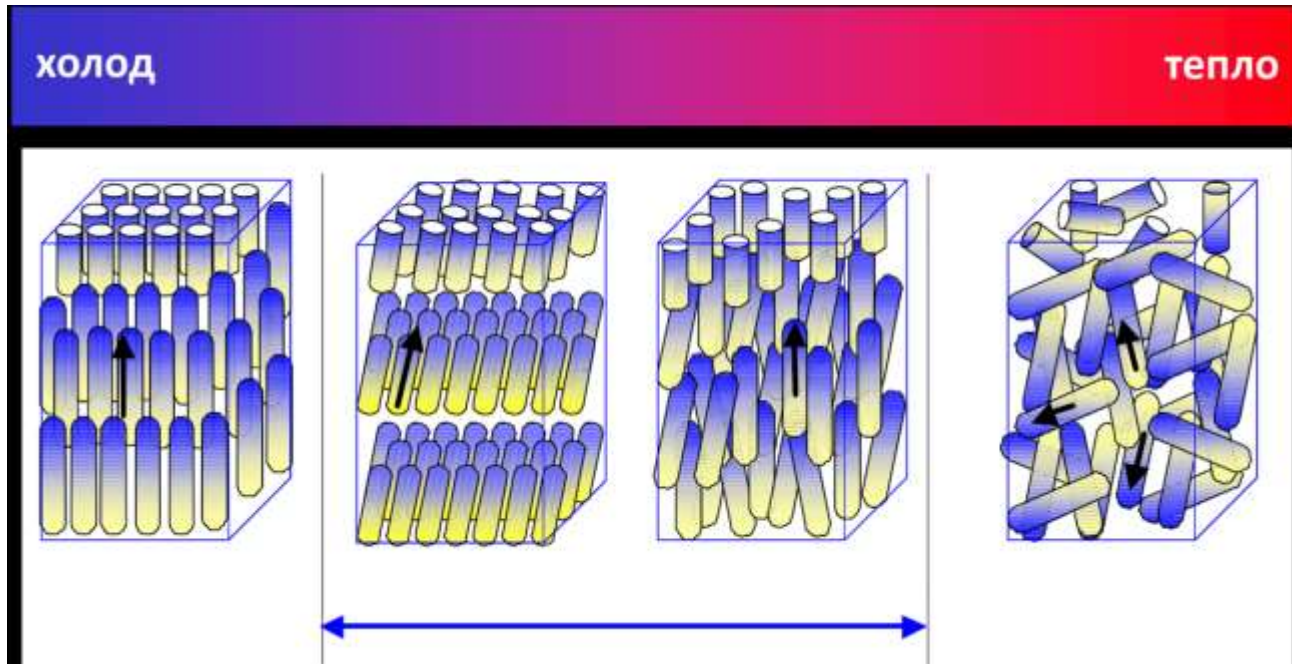


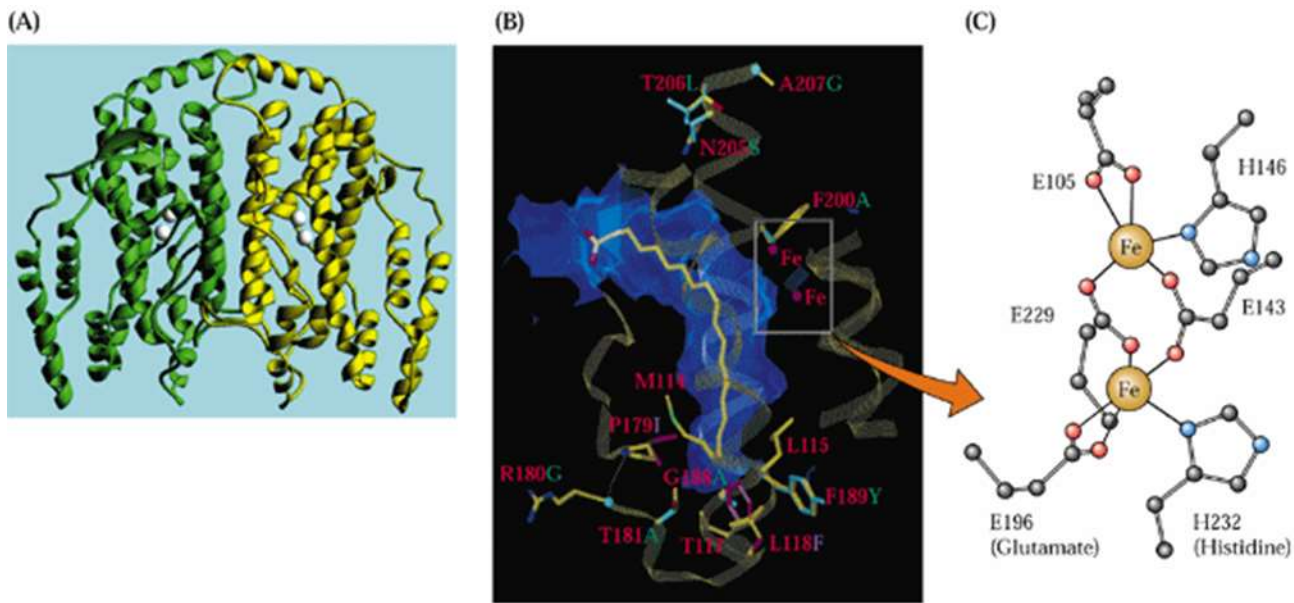
Что делать, если холодно?..

- ❖ Не допустить образование льда
- ❖ Обеспечить транскрипцию
- ❖ Обеспечить трансляцию
- ❖ Предохранить мембраны



Молекулярная динамика биологических мембран при изменении температуры

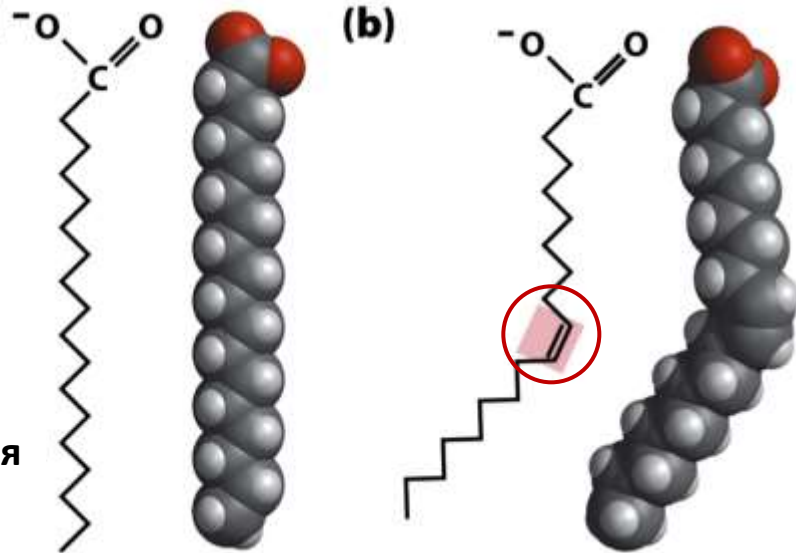




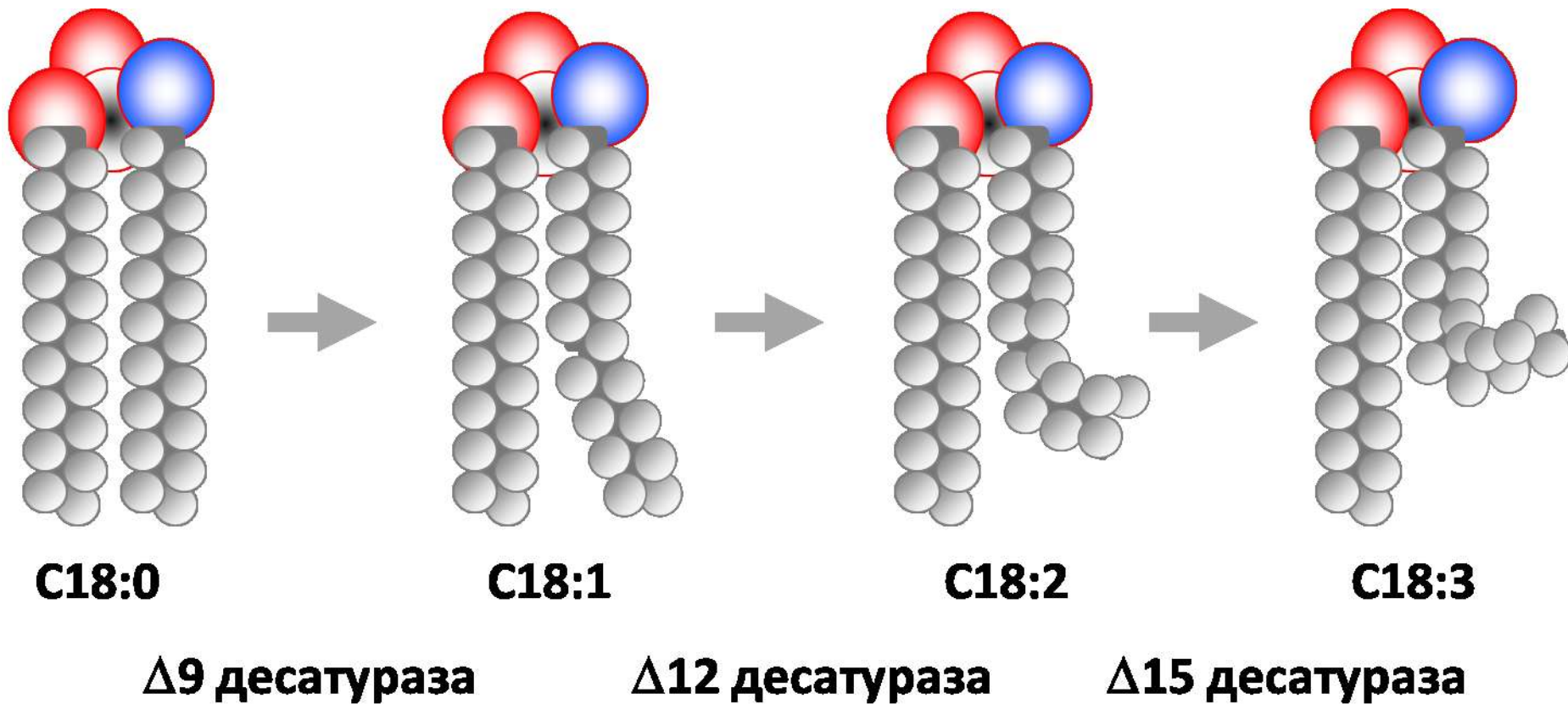
Десатуразы жирных кислот

Карбоксильная группа

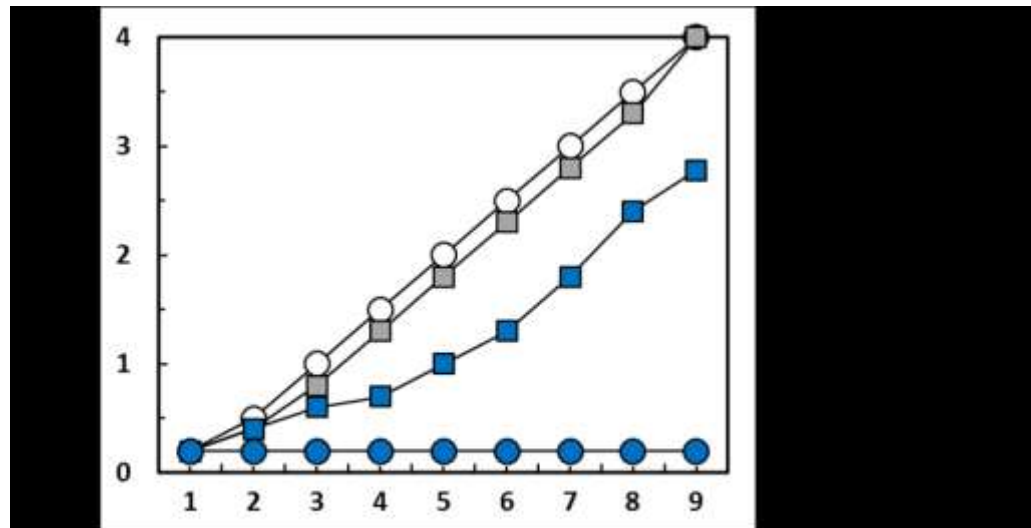
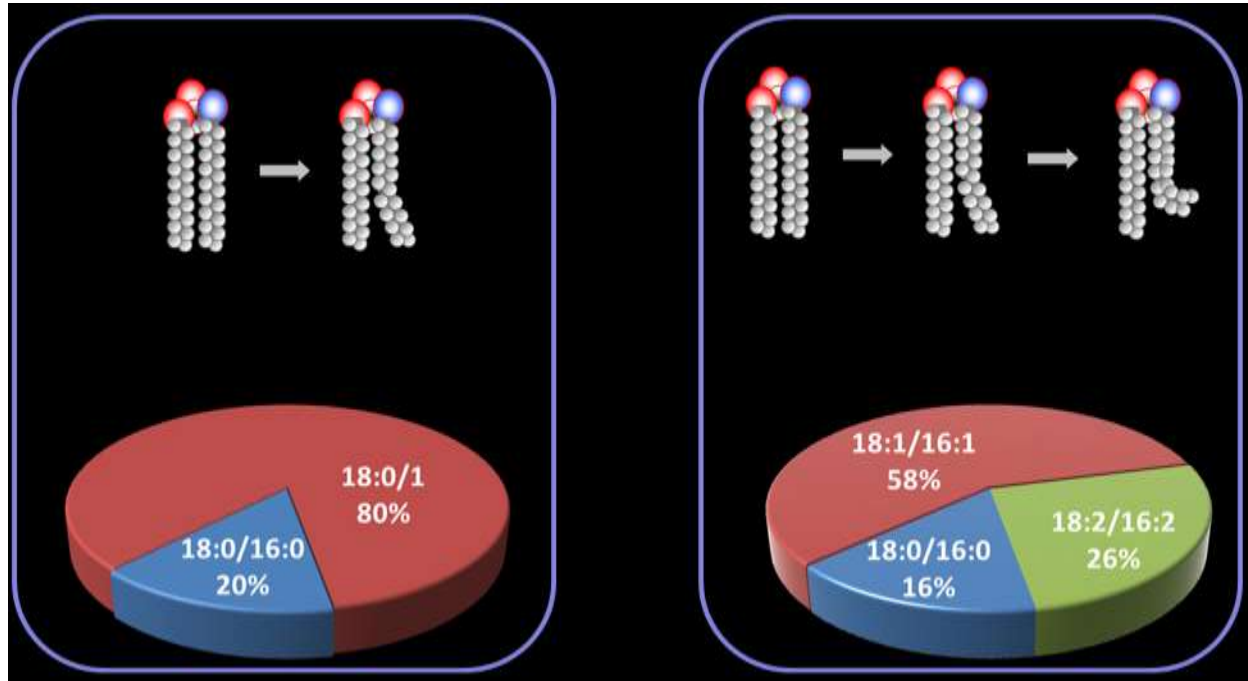
Углеводородная цепь

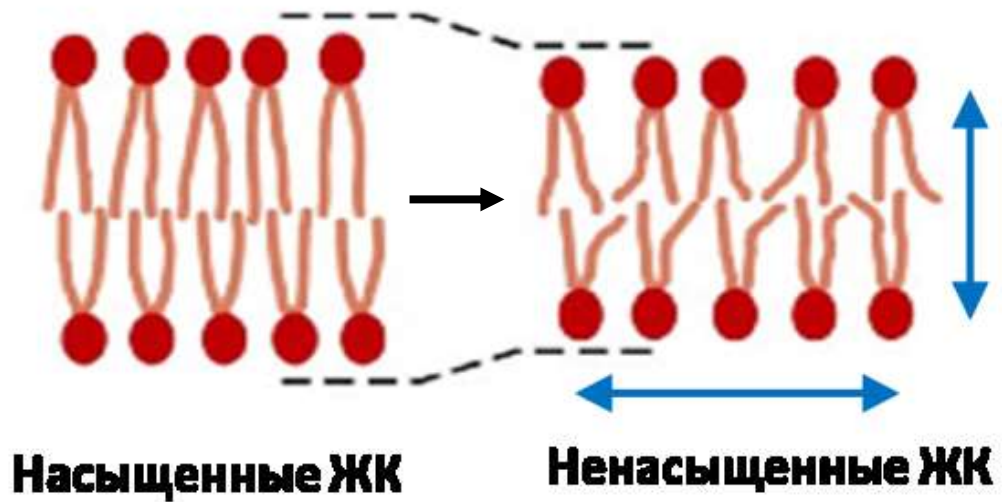


Десатурация жирных кислот



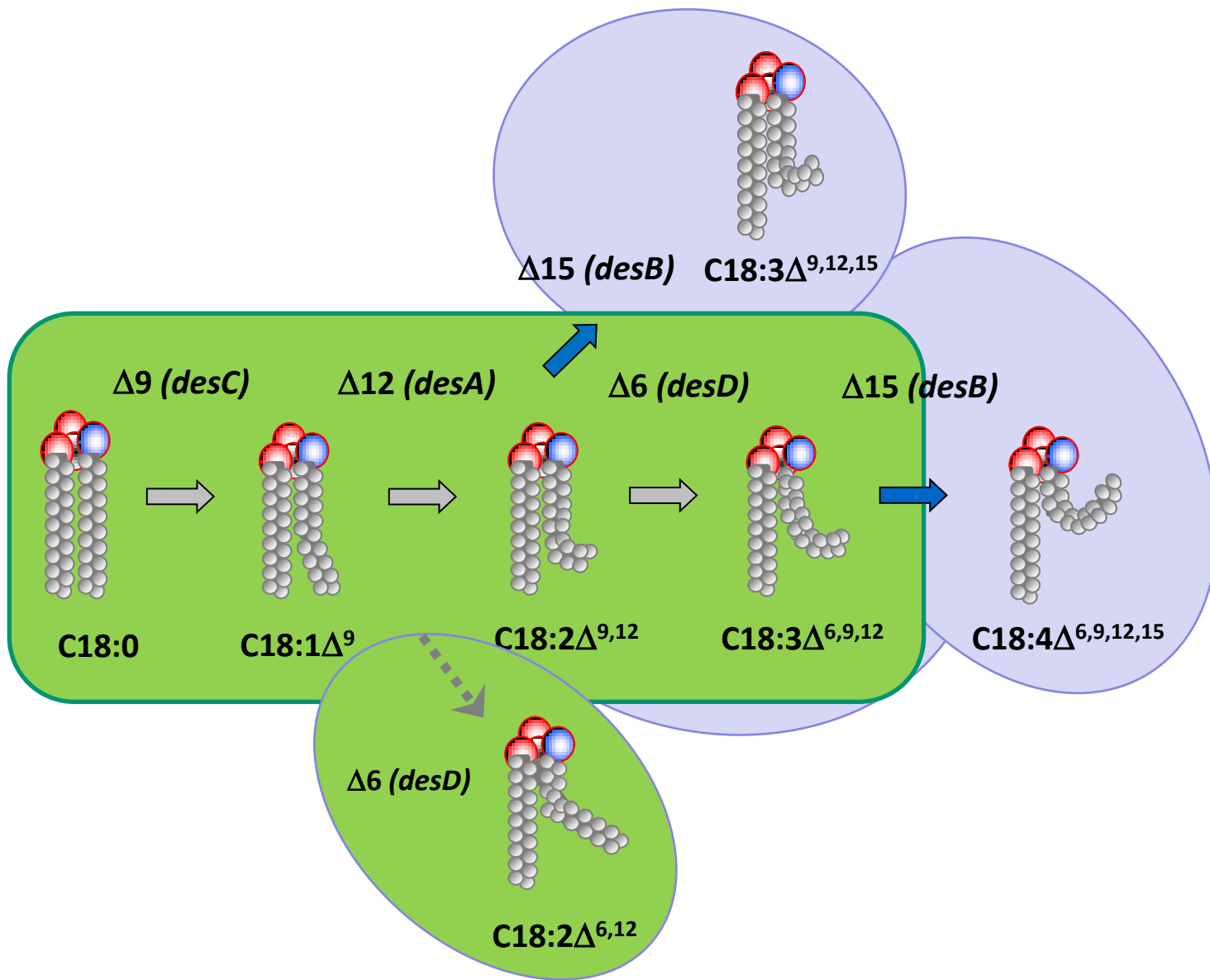
Трансформация *Synechococcus* sp. PCC 7942 геном Δ 12-десатуразы (*desA*) из *Synechocystis* sp. PCC 6803



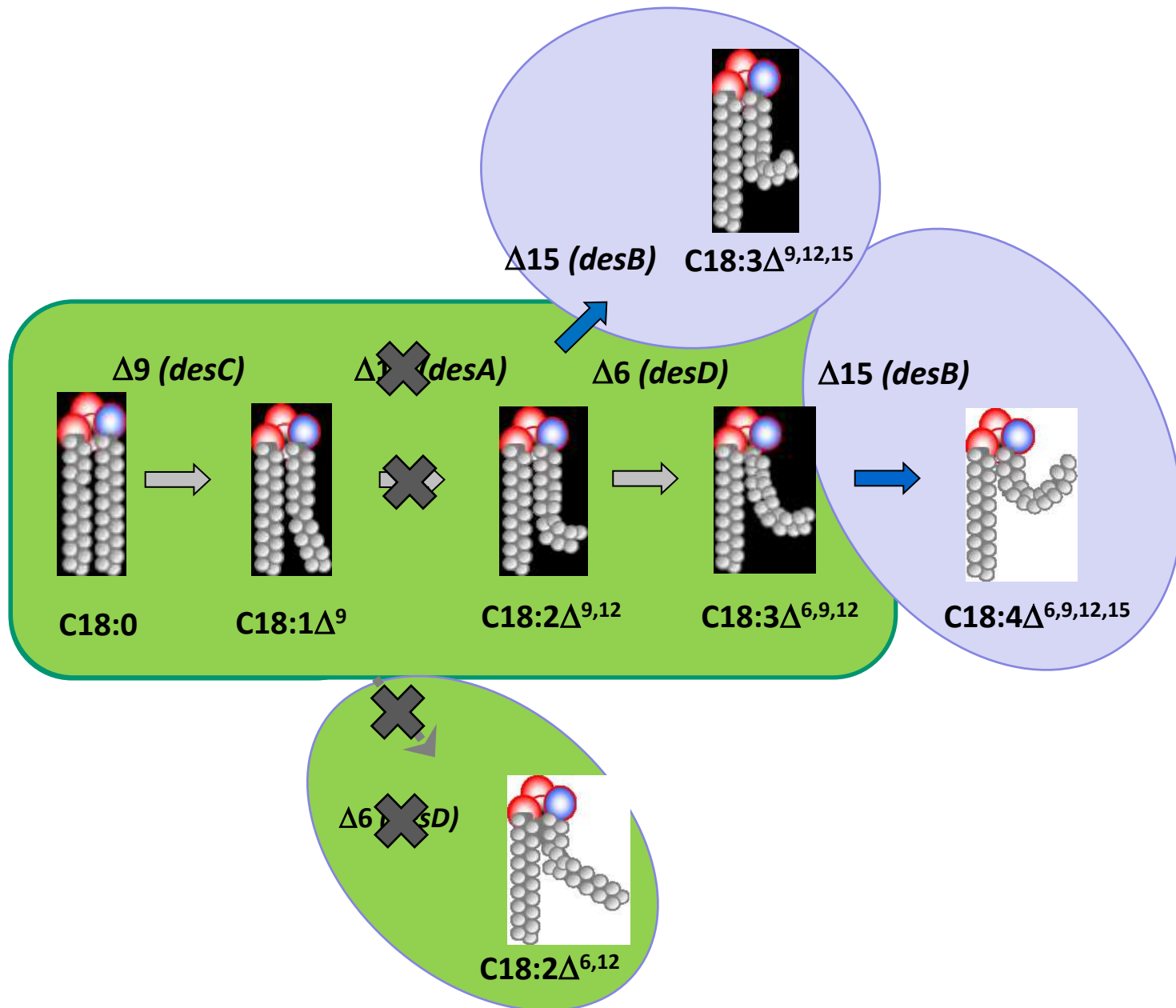


«Разжижение» мембран путем включения генов десатураз ЖК повышает холодоустойчивость

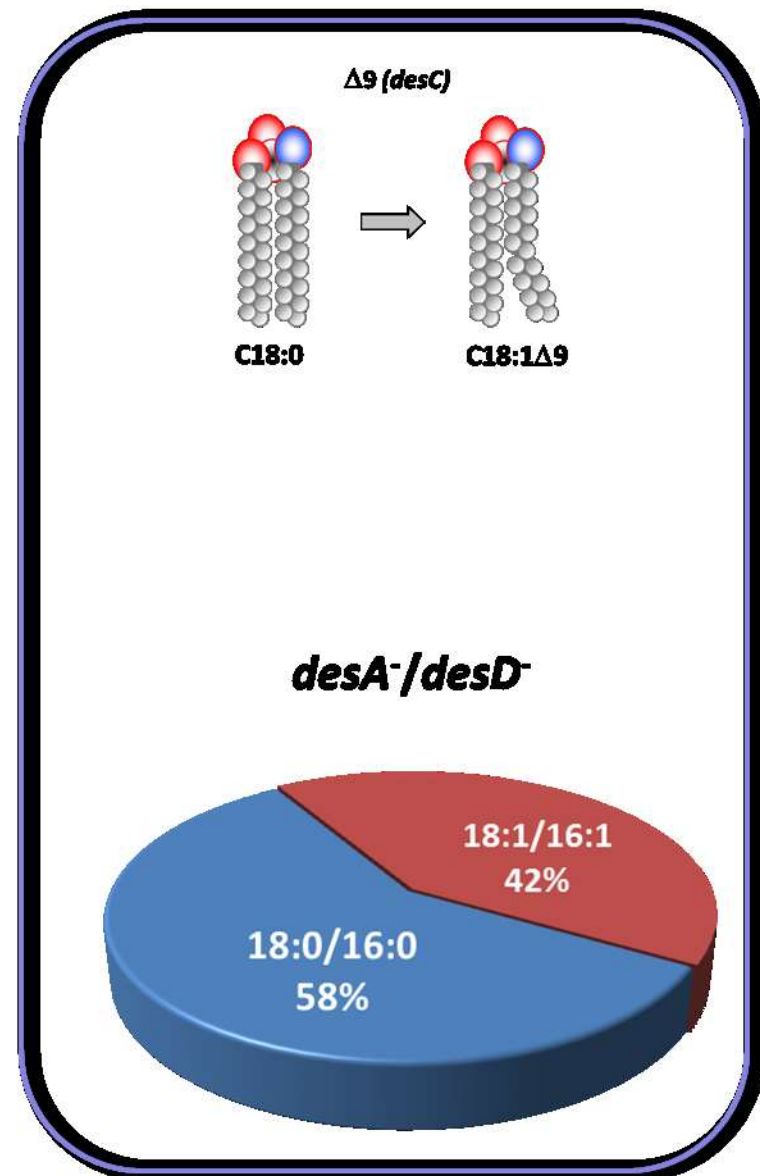
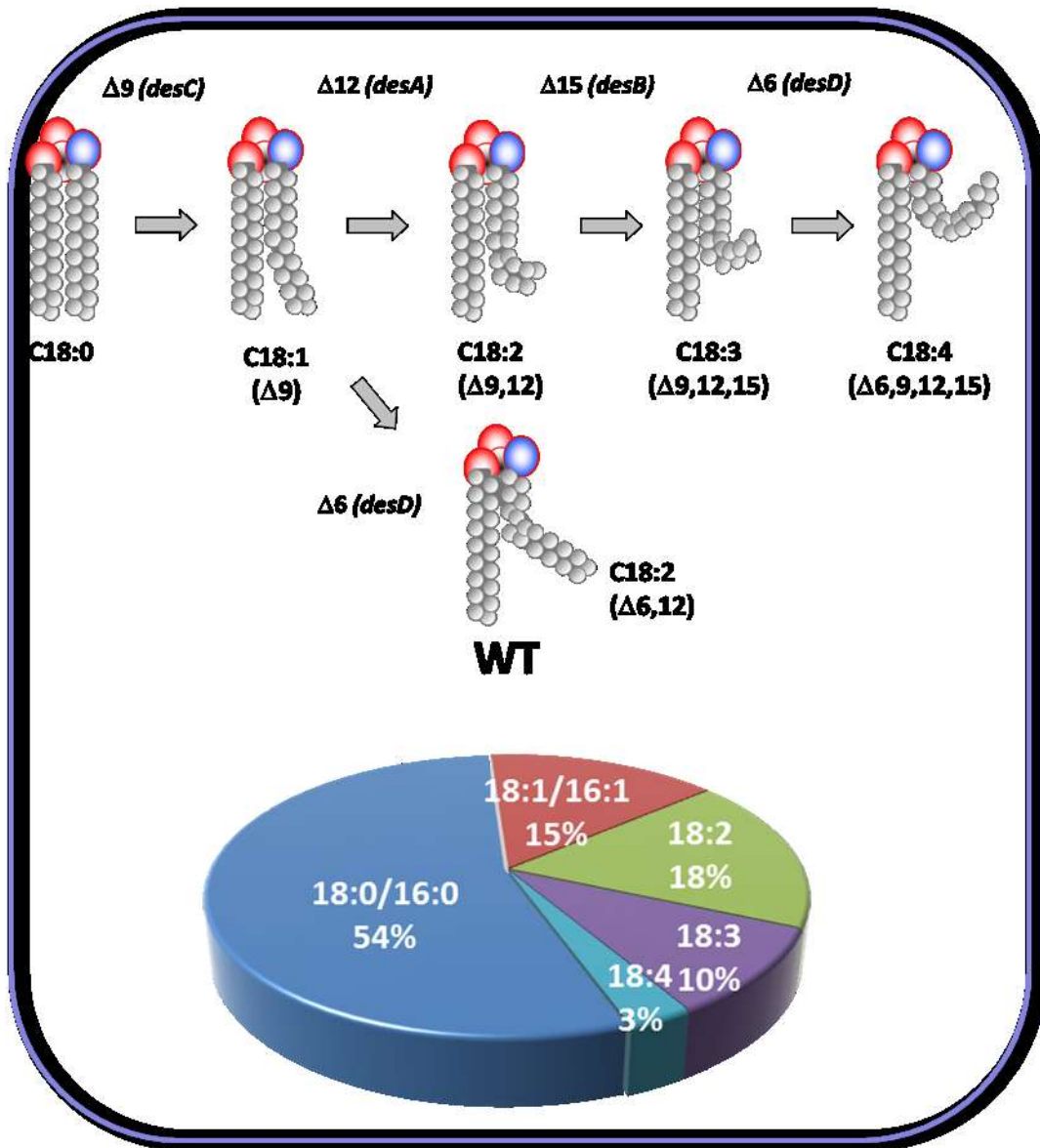
Десатурация ЖК у *Synechocystis*



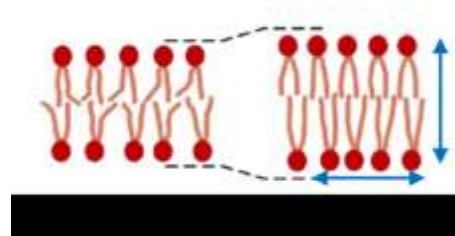
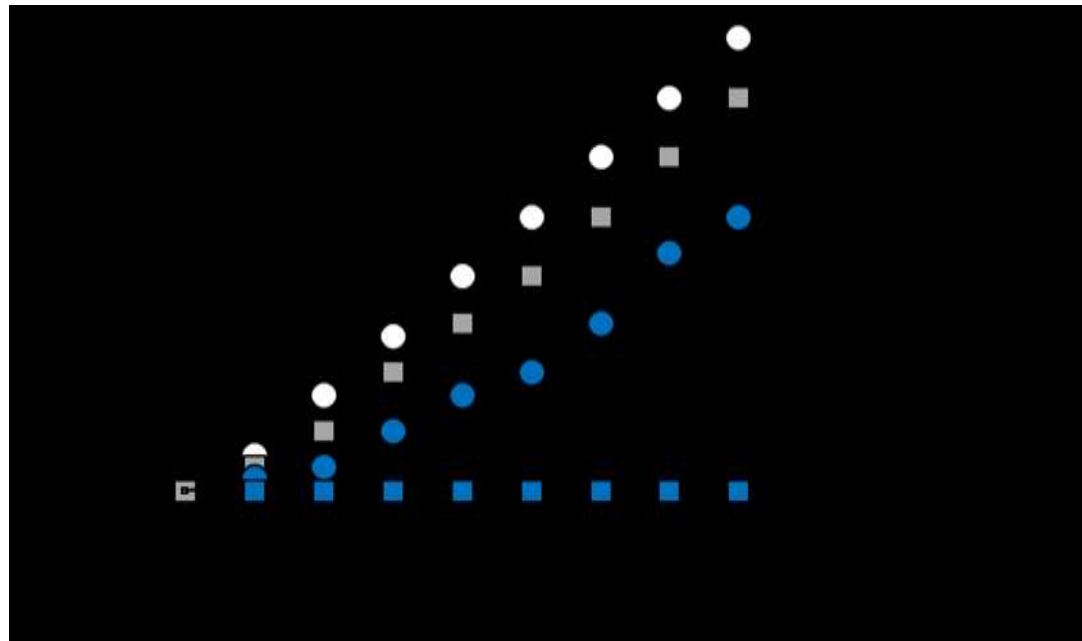
Направленный мутагенез генов десатураз *Synechocystis*



Десатурация ЖК у *Synechocystis* при низкой температуре



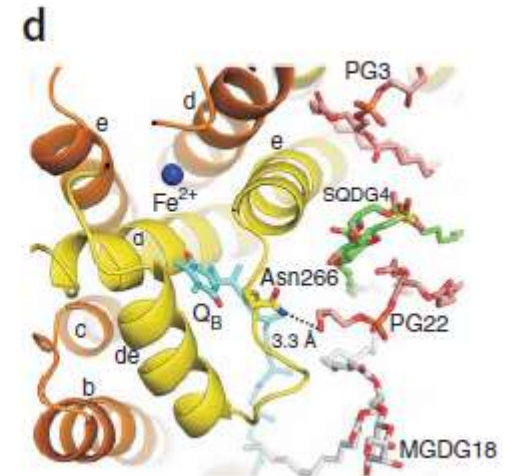
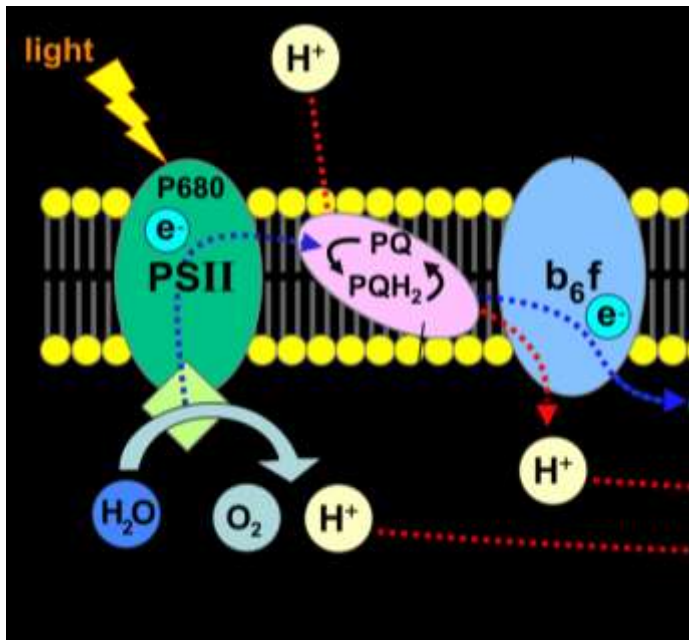
Рост клеток *Synechocystis* дикого типа (WT) и мутанта *desA⁻/desD⁻* при 32°C и 22°C



Уплотнение мембран путем «выключения» генов десатураз ЖК снижает холодоустойчивость

Tasaka *et al.* (1996) *EMBO J.* 23: 6416–6425.

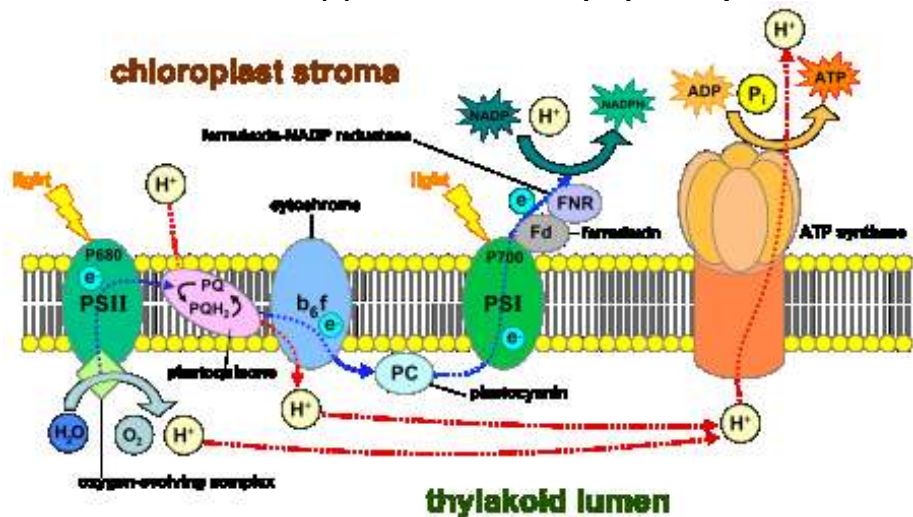
Мионов с соавт. (2012) *Молекулярная биология* 46: 147–155.



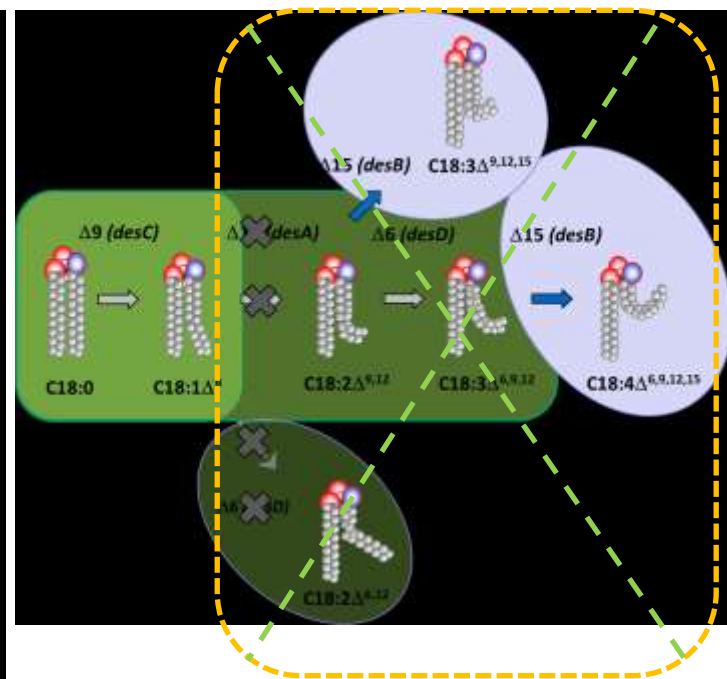
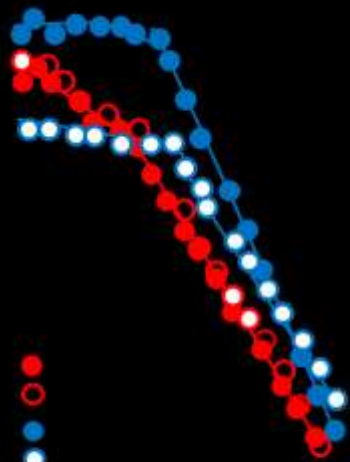
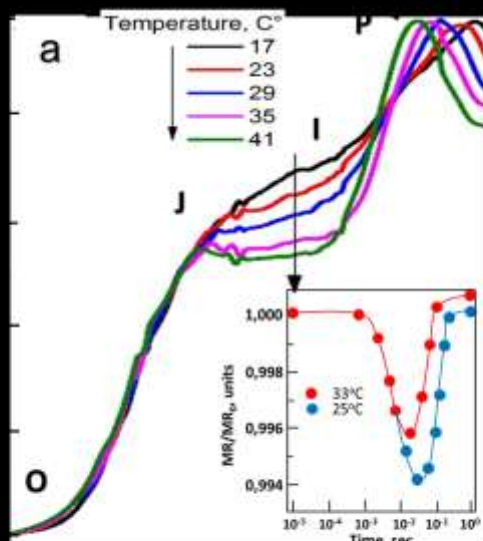
Guskov *et al.* (2009) Cyanobacterial photosystem II at 2.9-Å resolution and the role of quinones, lipids, channels and chloride. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 16: 334-342.

Mironov *et al.* (2019) Universal molecular triggers of stress responses in cyanobacterium *Synechocystis*. *Life* 9: 67. doi: 10.3390/life9030067.

Влияние температуры на (а) восстановление ПХ пула у *Synechocystis* дикого типа; (б) восстановление P700⁺ в клетках дикого типа (●) и мутанта AD (○) при 33°C и 25°C.

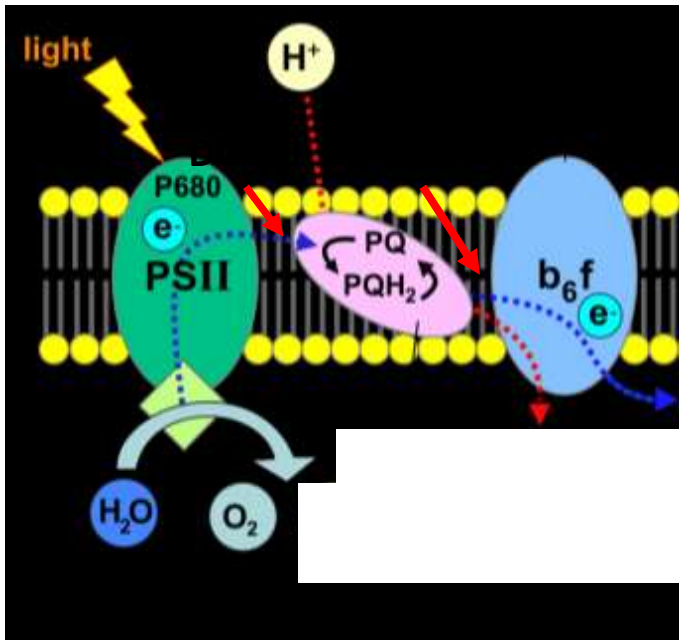


© Wiki



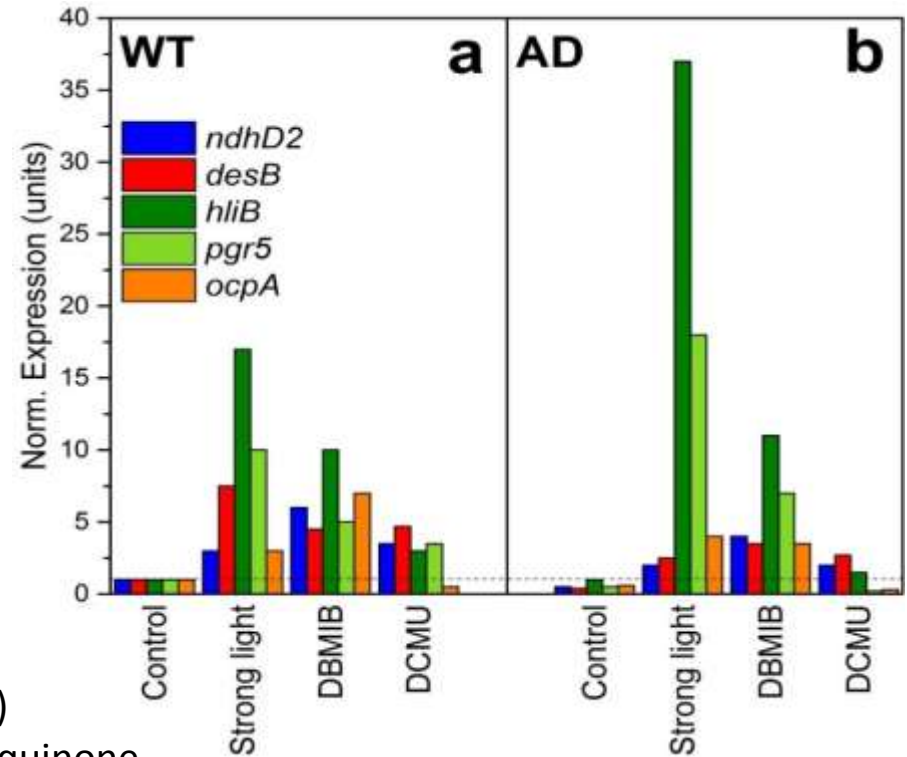
Maksimov *et al.* (2017) Membrane fluidity controls redox-regulated cold stress responses in cyanobacteria. *Photosynth. Res.* 133: 215–223.

Транскрипция генов стрессовых ответов у *Synechocystis* (WT и AD) при нормальной температуре в присутствии DCMU или DBMIB



DCMU – (3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea)

DBMIB – 2,5-Dibrom--methyl-6-isopropyl-p-benzoquinone



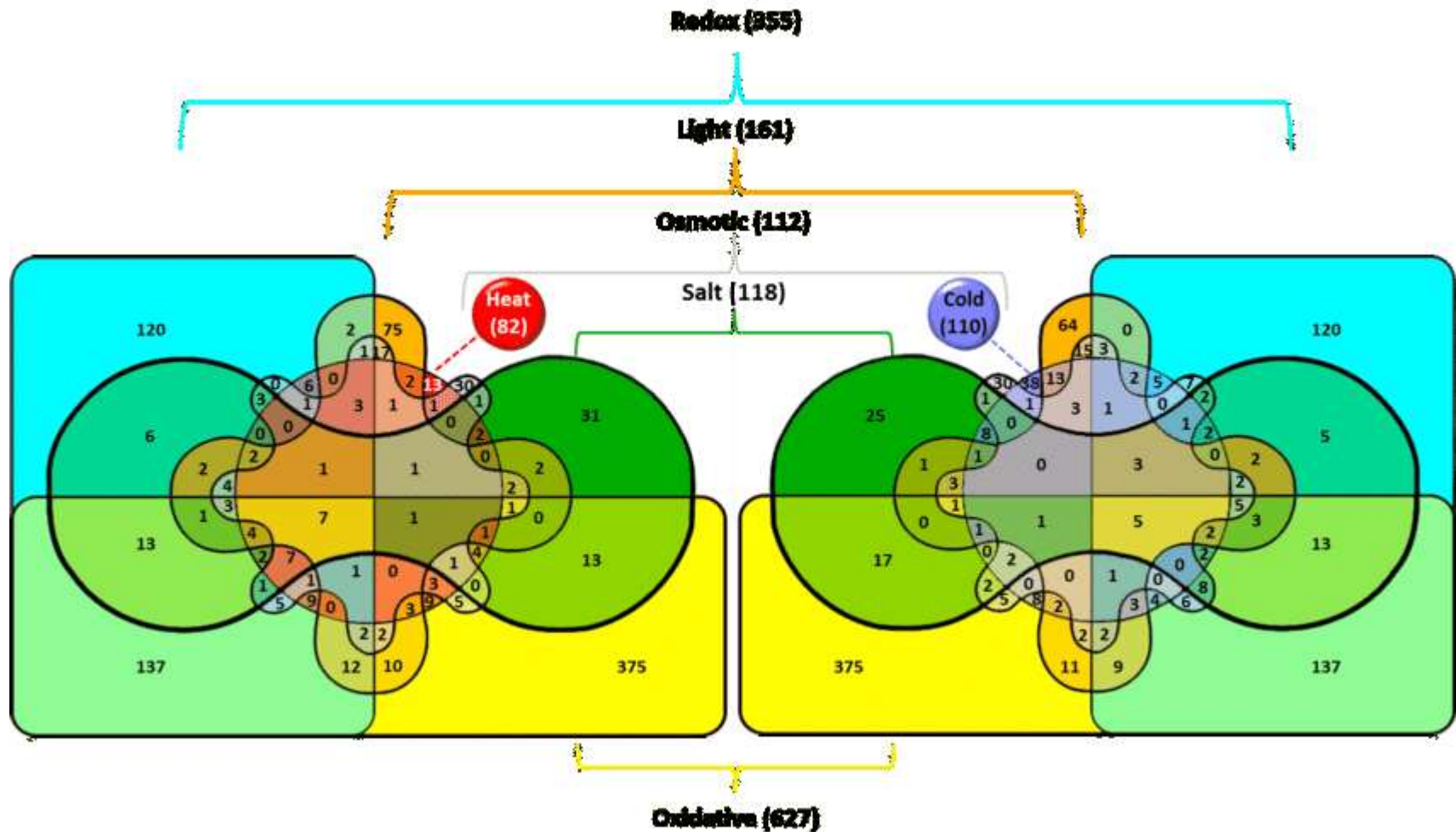
Вывод:

- редокс-регуляция ответов на холодовой стресс зависит от состояния мембран

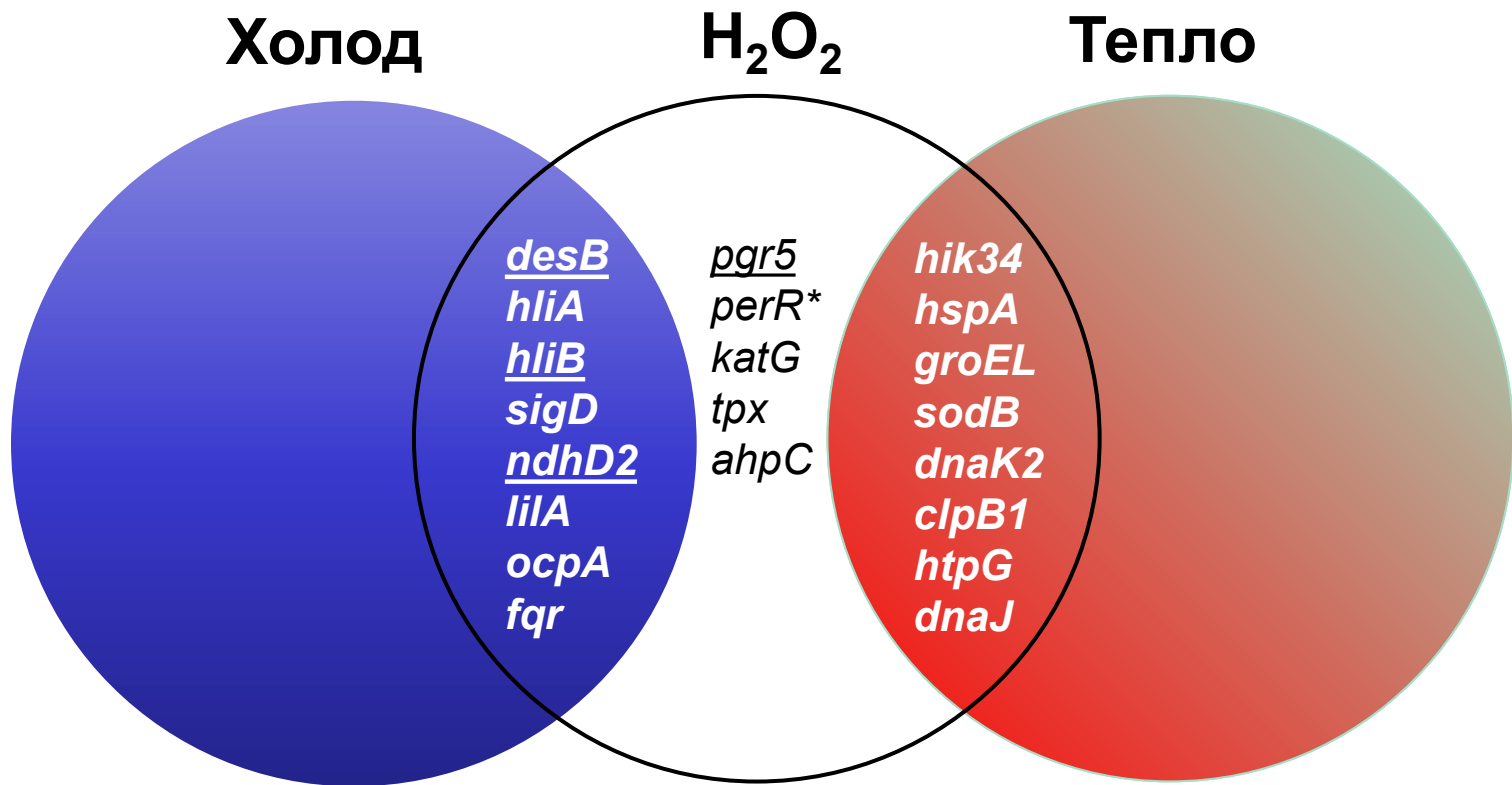
Los *et al.* (2013) Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions. *Photosynth. Res.* 116: 489–509.

Maksimov *et al.* (2017) Membrane fluidity controls redox-regulated cold stress responses in cyanobacteria. *Photosynth. Res.* 133: 215–223.

Диаграммы Венна, показывающие влияние различных стрессоров на индукцию транскрипции генов *Synechocystis*



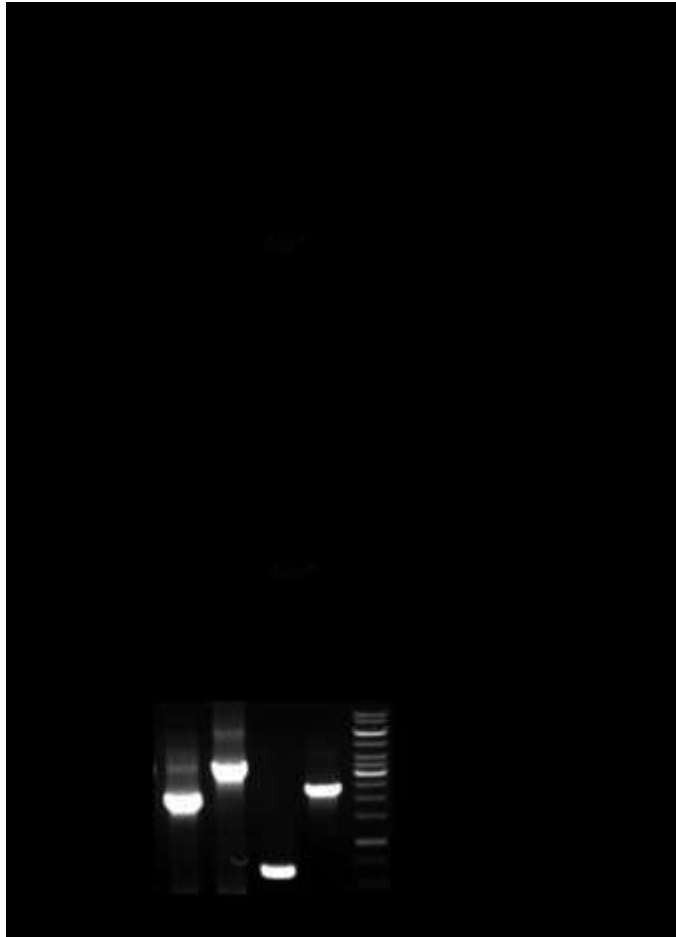
Sinetova & Los (2016) Systemic analysis of transcriptomics of *Synechocystis*: common stress genes and their universal triggers. *Mol. BioSyst.* 12: 3254–3258.



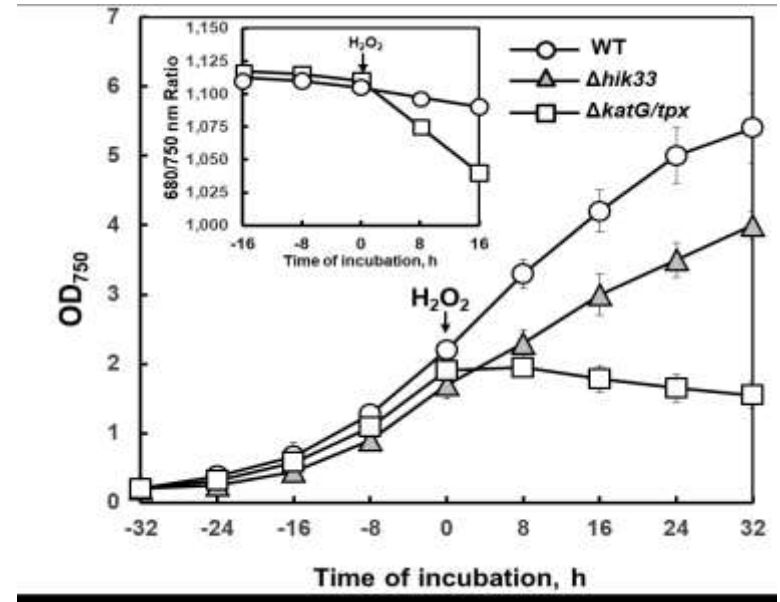
Feduraev *et al.* (2018) Hydrogen peroxide participates in perception and transduction of cold stress signal in *Synechocystis*. *Plant Cell Physiol.* 59: 1255-1264.

Двойной мутант *Synechocystis* дефектный по генам *katG* и *trp*

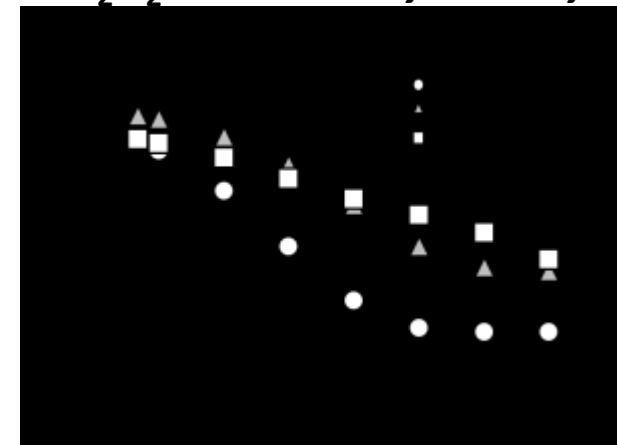
Каталаза-пероксидаза (KatG)
Тиоредоксин-пероксидаза (Trp)



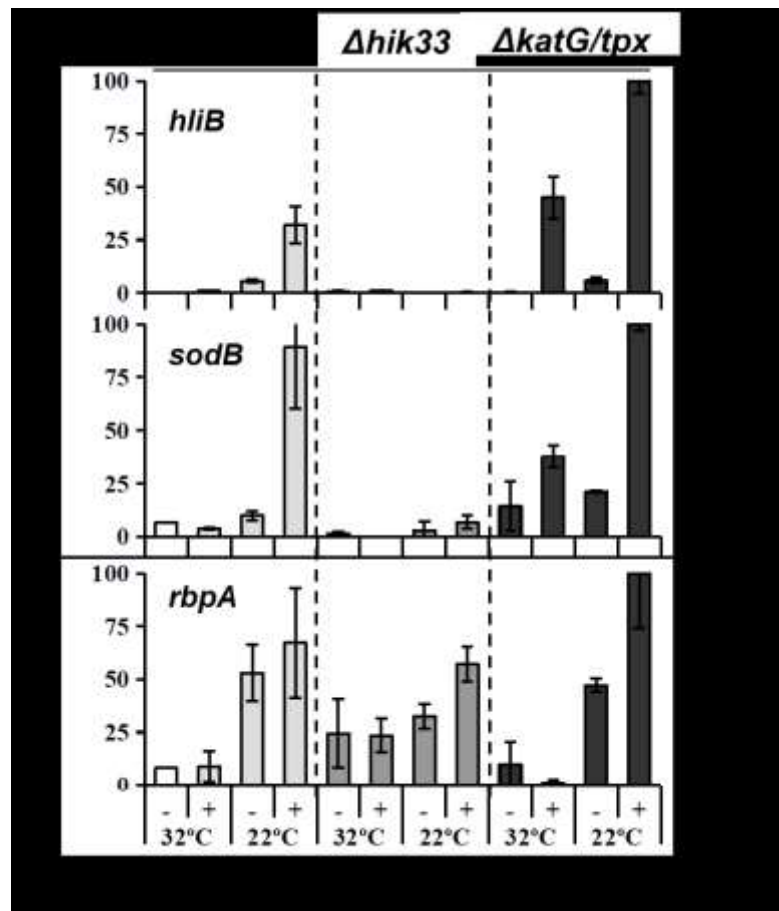
Влияние экзогенного H_2O_2 на рост *Synechocystis* при $32^\circ C$



Кинетика деградации экзогенного H_2O_2 клетками *Synechocystis*



Транскрипция стресс-индуцируемых генов у *Synechocystis*

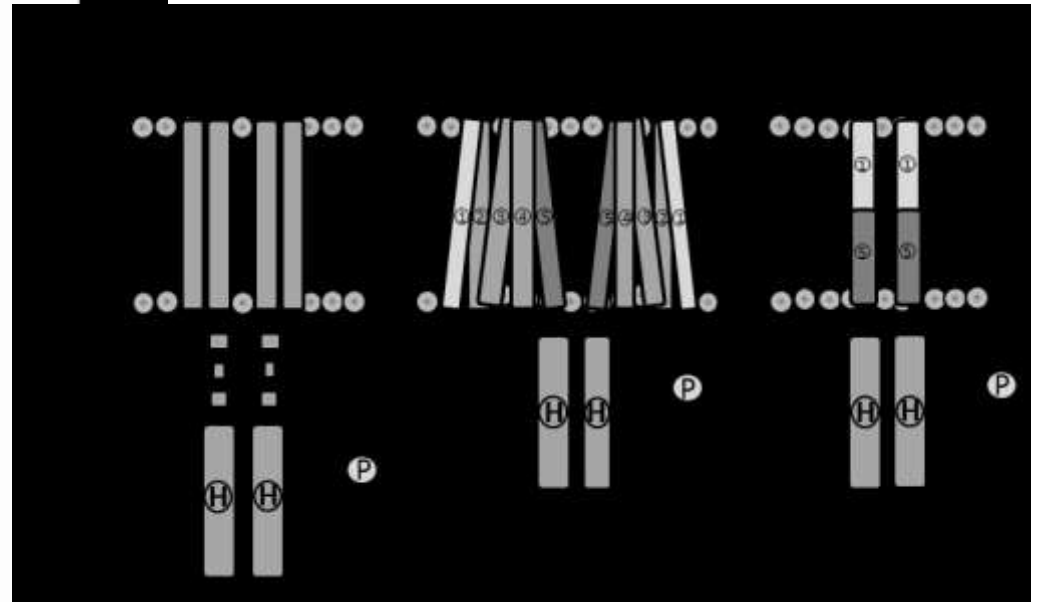
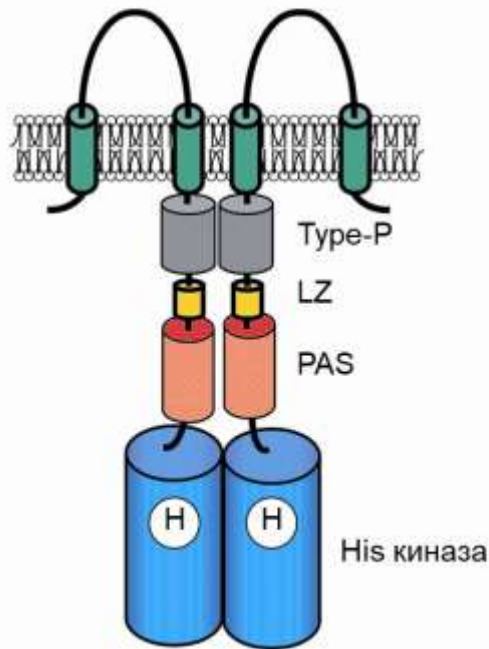


Feduraev *et al.* (2018) *Plant Cell Physiol.* 59: 1255-1264.

Mironov *et al.* (2019) *Life* 9: 67.



Б

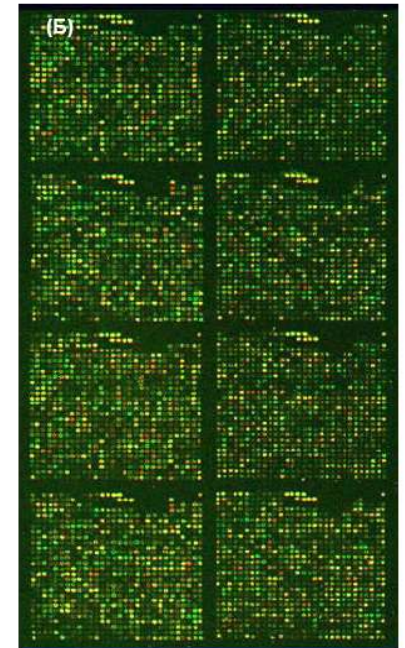
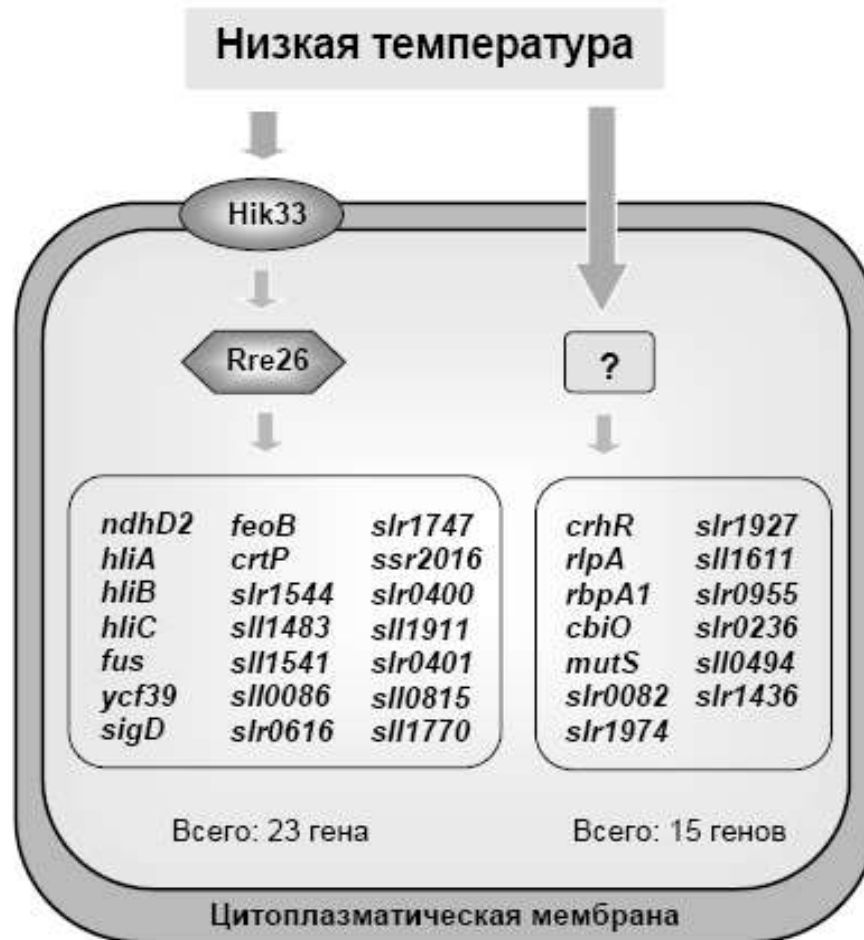
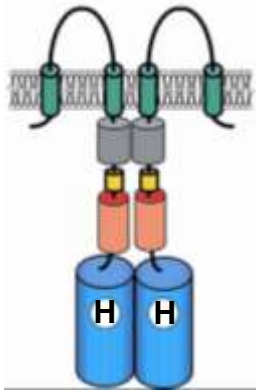


Suzuki I., Los D.A., Kanesaki Y., Mikami K., Murata N. (2000) The pathway for perception and transduction of low-temperature signals in *Synechocystis*. *EMBO J.* 19: 1327–1334.

Los *et al.* (2013) Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions. *Photosynth. Res.* 116: 489–509.

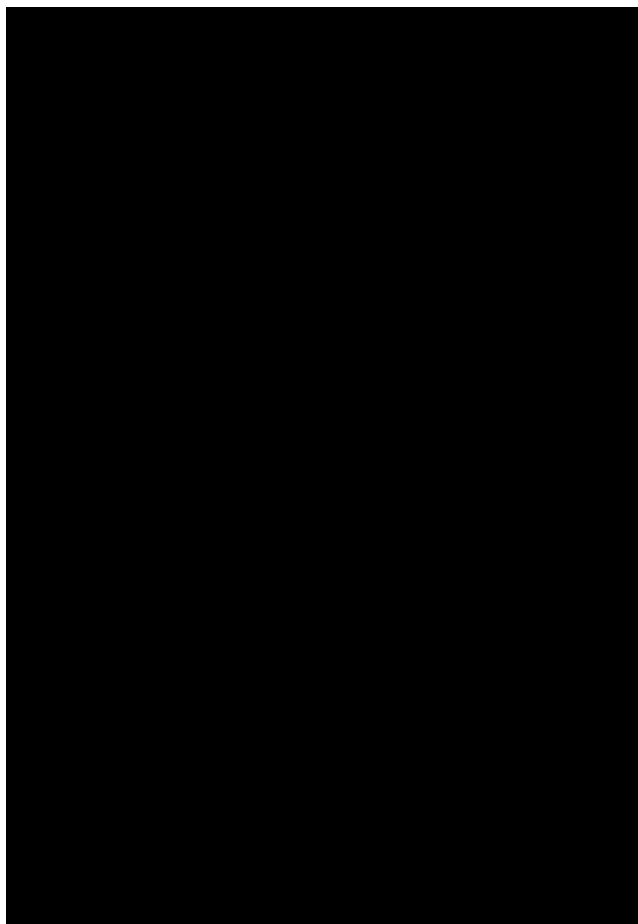
Saita E., Albanesi D., de Mendoza D. (2016) Sensing membrane thickness: Lessons learned from cold stress. *BBA* 1861: 837–846.

Контроль транскрипции генов, индуцируемых холодом

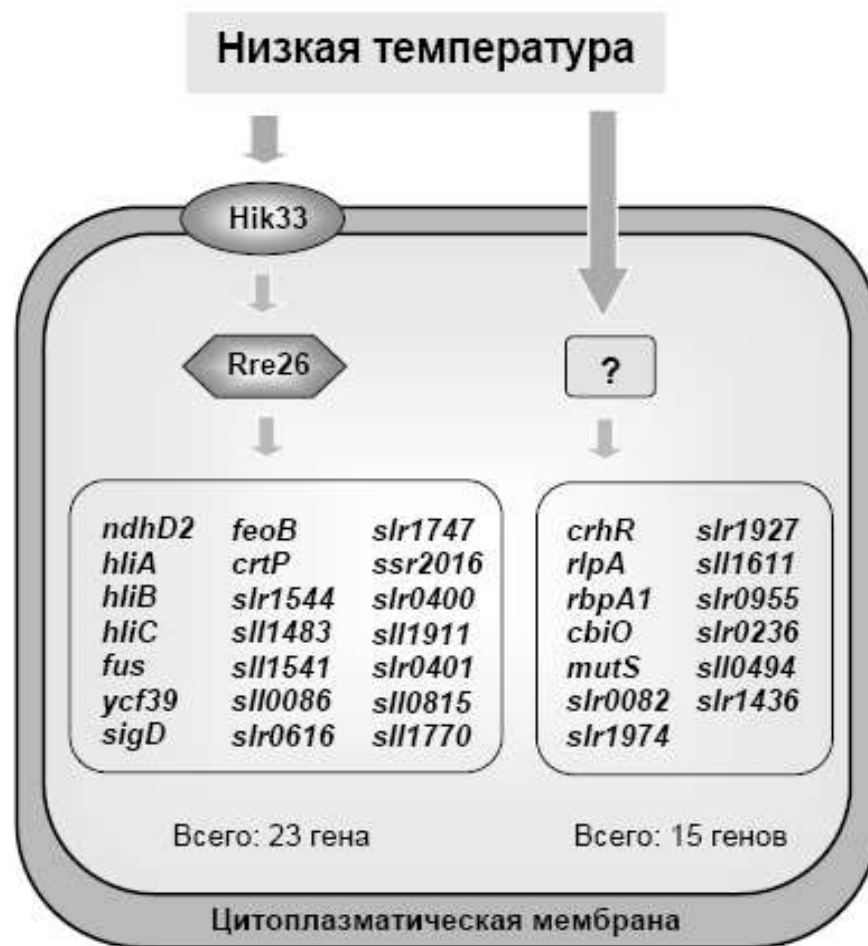


Светозависимая и светонезависимая транскрипция генов ответа на холододвой стресс

Относительное количество мРНК (%)



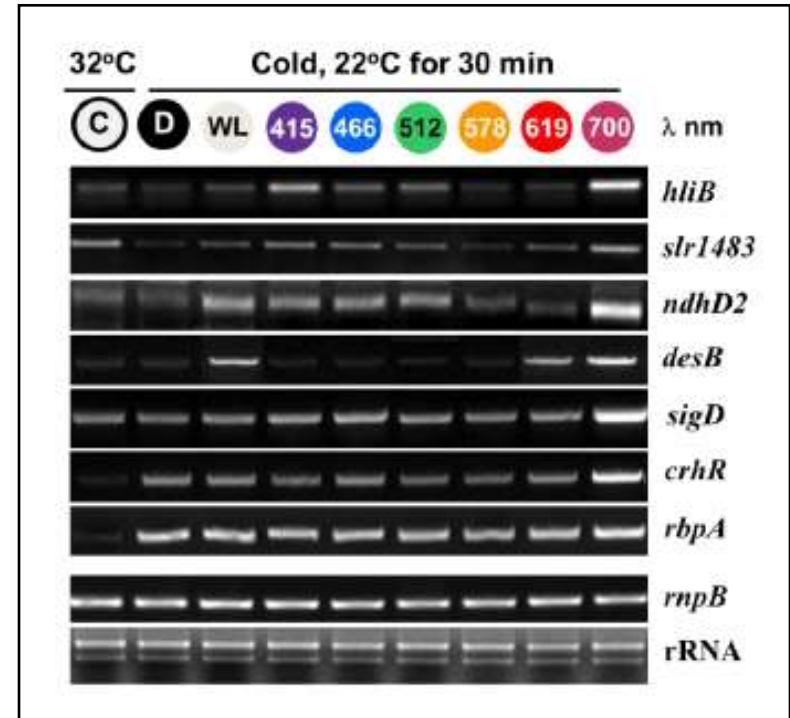
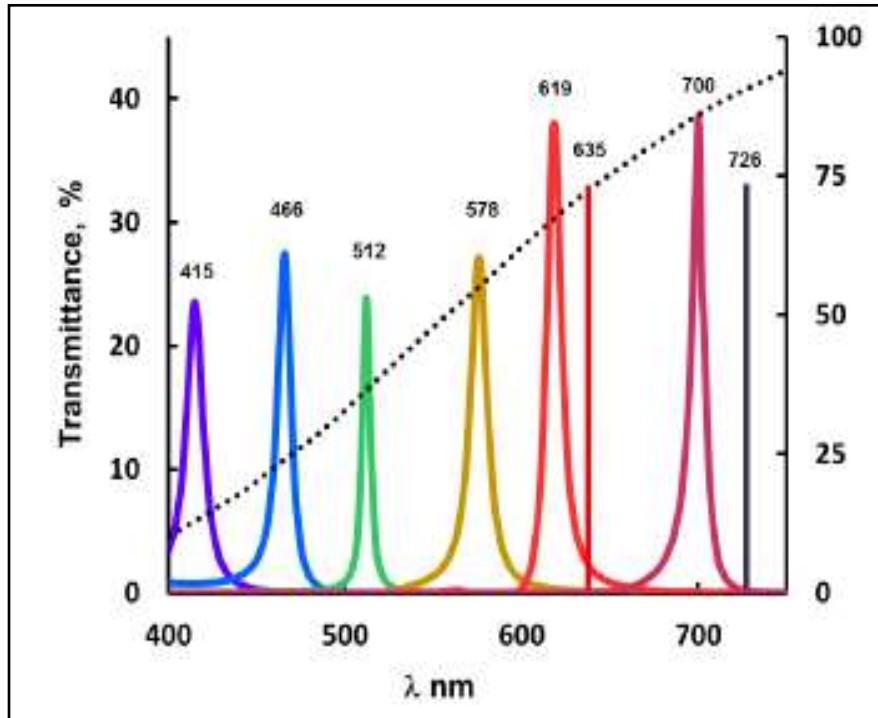
Температура инкубации, °C



Mironov & Los (2016) Light regulation of cold stress responses in *Synechocystis*. In: *Stress and Environmental Control of Gene Expression in Bacteria*. Ed. F. J. de Bruijn. John Wiley & Sons, Inc. pp. 881-889.

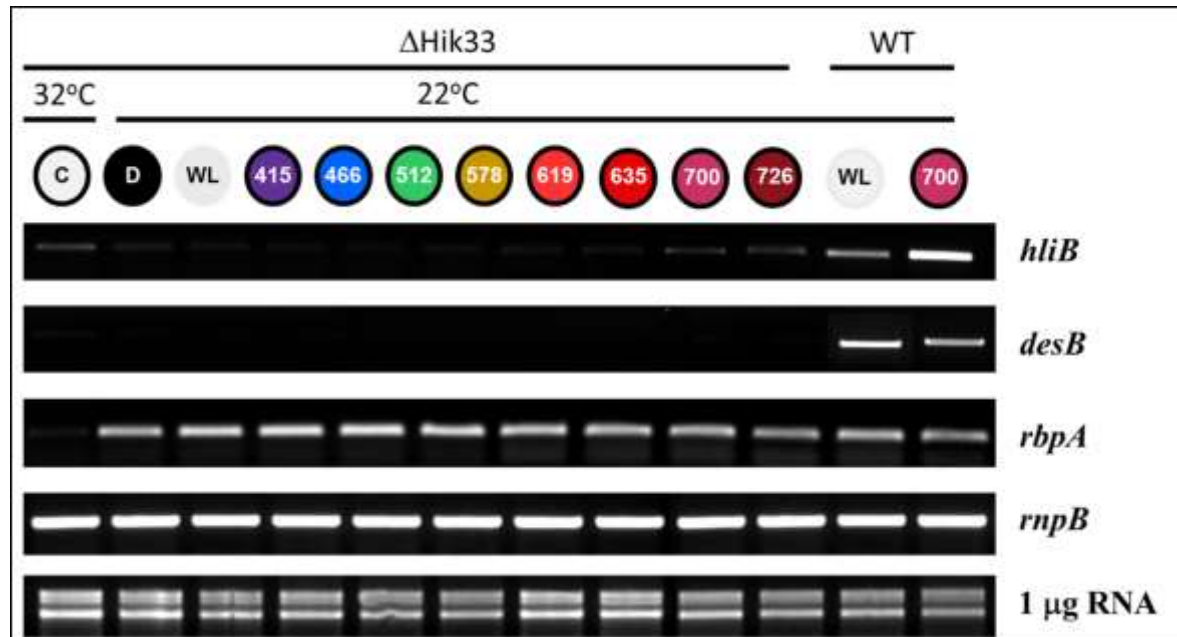
Лось Д.А. (2010) Сенсорные системы цианобактерий. М., Научный Мир, 218 стр.

Транскрипция некоторых генов ответа на холодовой стресс запускаются красным светом (700 нм)



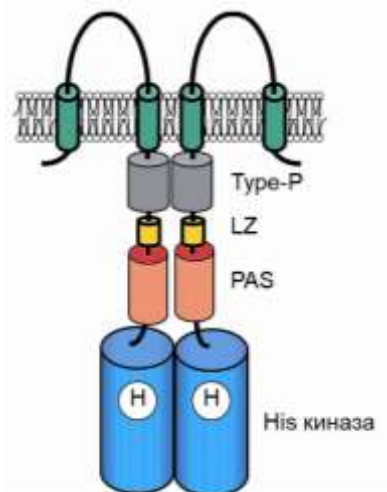
Mironov *et al.* (2014) Cold-induced gene expression and ω 3 fatty acid unsaturation is controlled by red light in *Synechocystis*. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 137: 84-88.

Нik33-зависимые гены *Synechocystis* являются светозависимыми



Нik33:

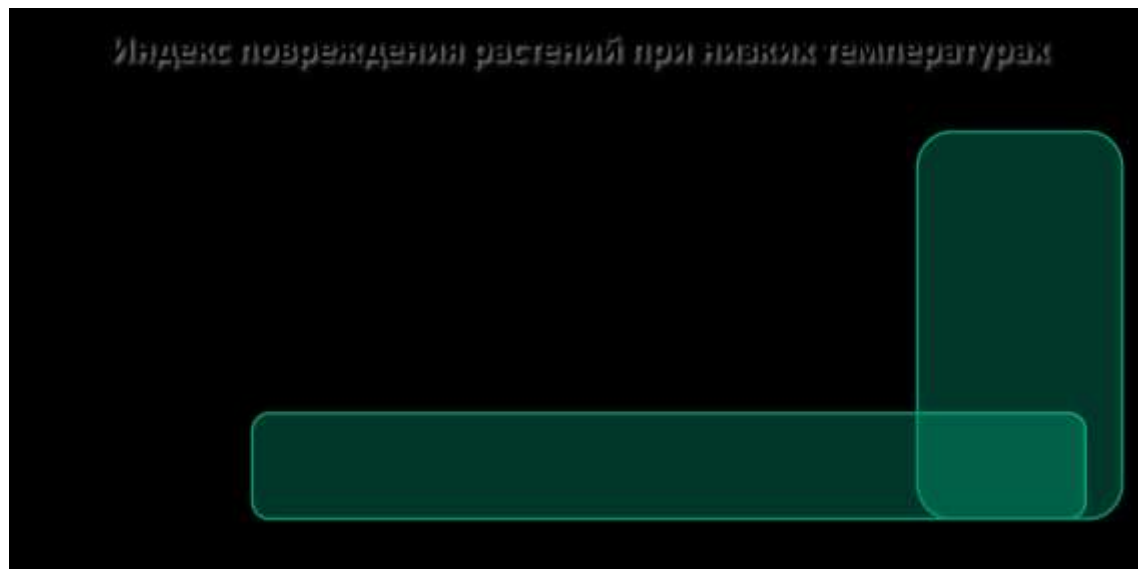
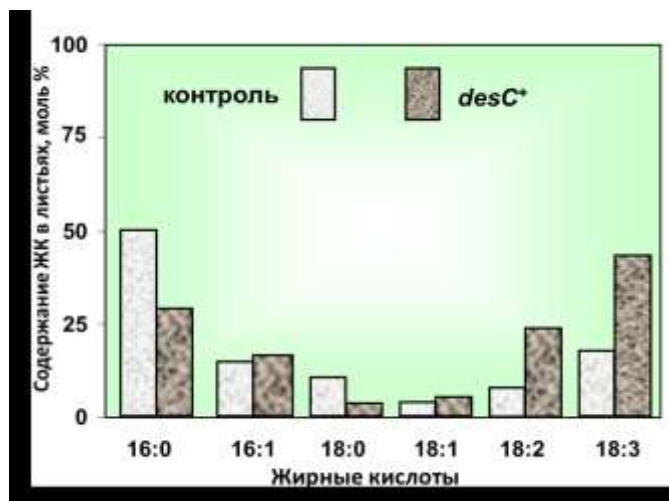
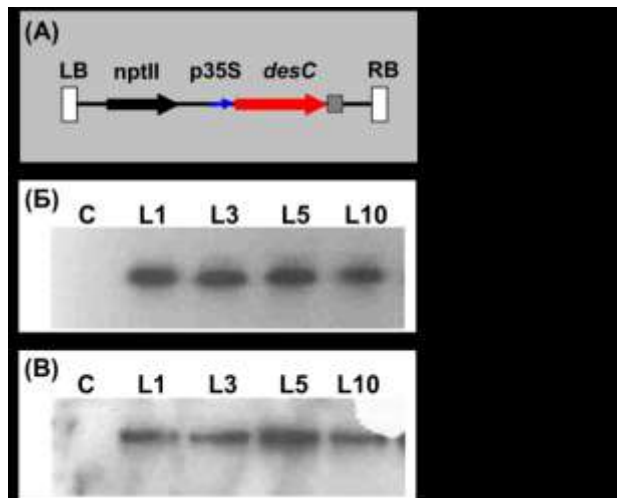
- Рецептор красного света нефитохромного типа
- Рецептор H₂O₂



Выводы

- 1) H_2O_2 и редокс-статус ПХ являются универсальными триггерами ответов на различные стрессоры
- 2) Образование АФК (H_2O_2) зависит от физических свойств мембран
- 3) Разрушающий эффект H_2O_2 уменьшается с увеличением текучести биологических мембран

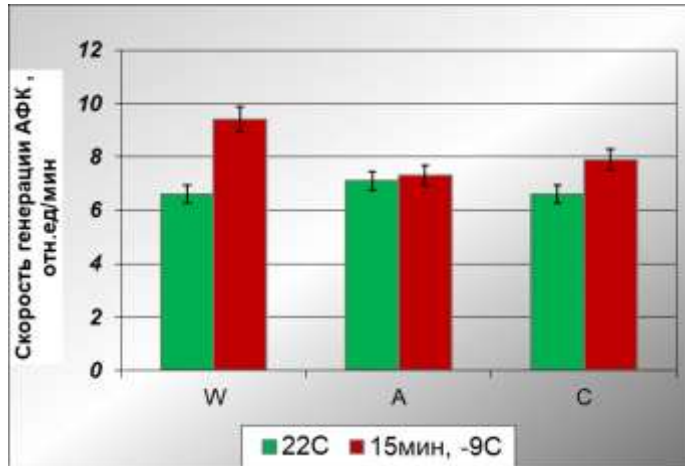
Генетическая инженерия холодоустойчивости: табак трансформация геном $\Delta 9$ -десатуразы из цианобактерии



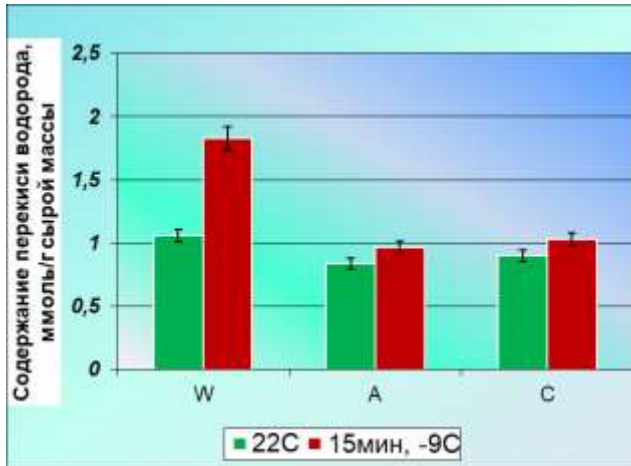
Orlova *et al.* (2003) Transformation of tobacco with a gene for the thermophilic acyl-lipid desaturase enhances the chilling tolerance of plants. *Plant Cell Physiol.* 44: 447-450.

Генетическая инженерия холодоустойчивости: картофель - сорт «Десница» (трансформация геном $\Delta 12$ -десатуразы)

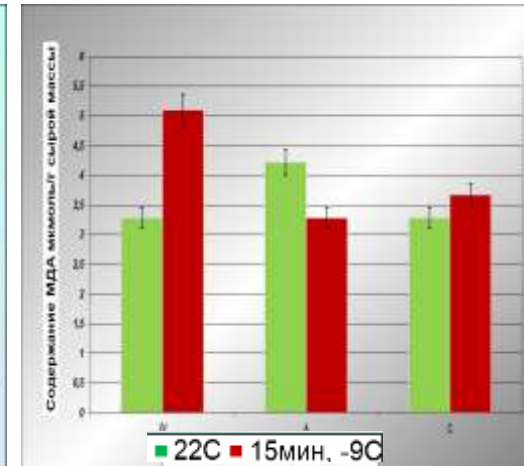
Скорость образования супероксид-аниона



Содержание перекиси водорода



Содержание МДА



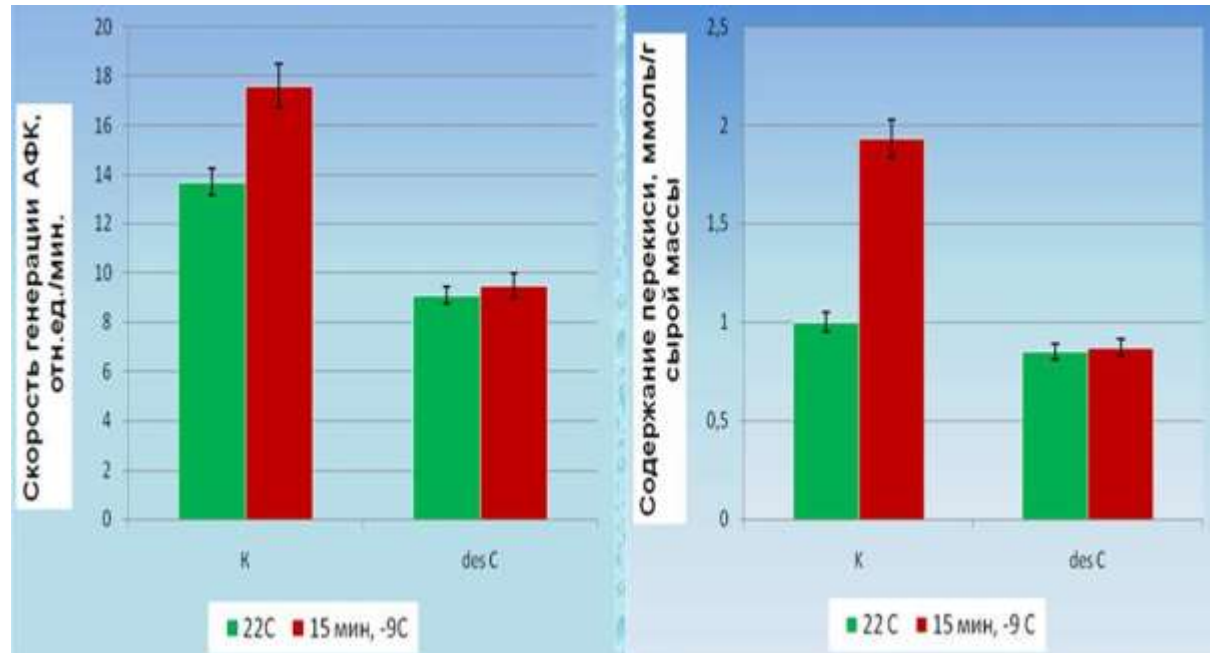
Демин И.Н., Дерябин А.Н., Синькевич М.С., Трунова Т.И. (2008) Введение гена *desA* $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы цианобактерии повышает устойчивость растений картофеля к окислительному стрессу, вызванному гипотермией. *Физиология растений* 55: 710–720.

Астахова Н.В., Демин И.Н., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И. (2011) Влияние гена *desA* $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы на структуру хлоропластов и устойчивость к гипотермии растений картофеля. *Физиология растений* 58: 21–27.

Демин И.Н., Нарайкина Н.В., Цыдендамбаев В.Д., Мошков И.Е., Трунова Т.И. (2013) Влияние трансформации растений картофеля геном $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы на CO_2 -газообмен и активность антиоксидантных ферментов при гипотермии. *Физиология растений* 60: 377–385.

Нарайкина Н.В., Синькевич М.С., Демин И.Н., Селиванов А.А., Мошков И.Е., Трунова Т.И. (2014) Изменения активности изоформ супероксиддисмутазы у растений картофеля дикого типа и трансформированных геном $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы при низкотемпературной адаптации. *Физиология растений* 61: 359–366.

Генетическая инженерия холодоустойчивости: картофель - сорт «Юбилей Жукова» (трансформация геном $\Delta 9$ -десатуразы)



Дополнительная десатурация ЖК

- 1) предотвращает возникновение АФК и дальнейшее развитие окислительного стресса при гипотермии;
- 2) защищает мембраны от действия повреждающих агентов, снижая интенсивность ПОЛ и степень разрушения мембранных компонентов.

© Выводы из работ сотрудников Лаборатории зимостойкости ИФР РАН

Maali-Amiri *et al.* (2010) *J. Integr. Plant Biol.* 52: 289-297.

Demin *et al.* (2011) *Acta Agronomica* 59: 87-99.

Юрьева с соавт. (2014) Способ получения форм картофеля сорта скороплодный *in vitro*, устойчивых к температурным стрессам и к возбудителю фитофтороза. Патент РФ № 2505955 от 20.02.2014.



Куприянова Е.В. Лось Д.А. Миронов К.С. Новикова Г.В. Зорина А.А. Синетова М.А.

Спасибо!

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

**ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ
им. К.А. ТУМУРЯЗЕВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИФР РАН)**



www.ippras.ru

www.cellreg.org