



Подходы к изучению механизмов защитного действия белка-индуктора из *Pseudomonas fluorescens*



ФГБНУ ВНИИФ РАН

Отдел молекулярной биологии

Минск, 2023 г.

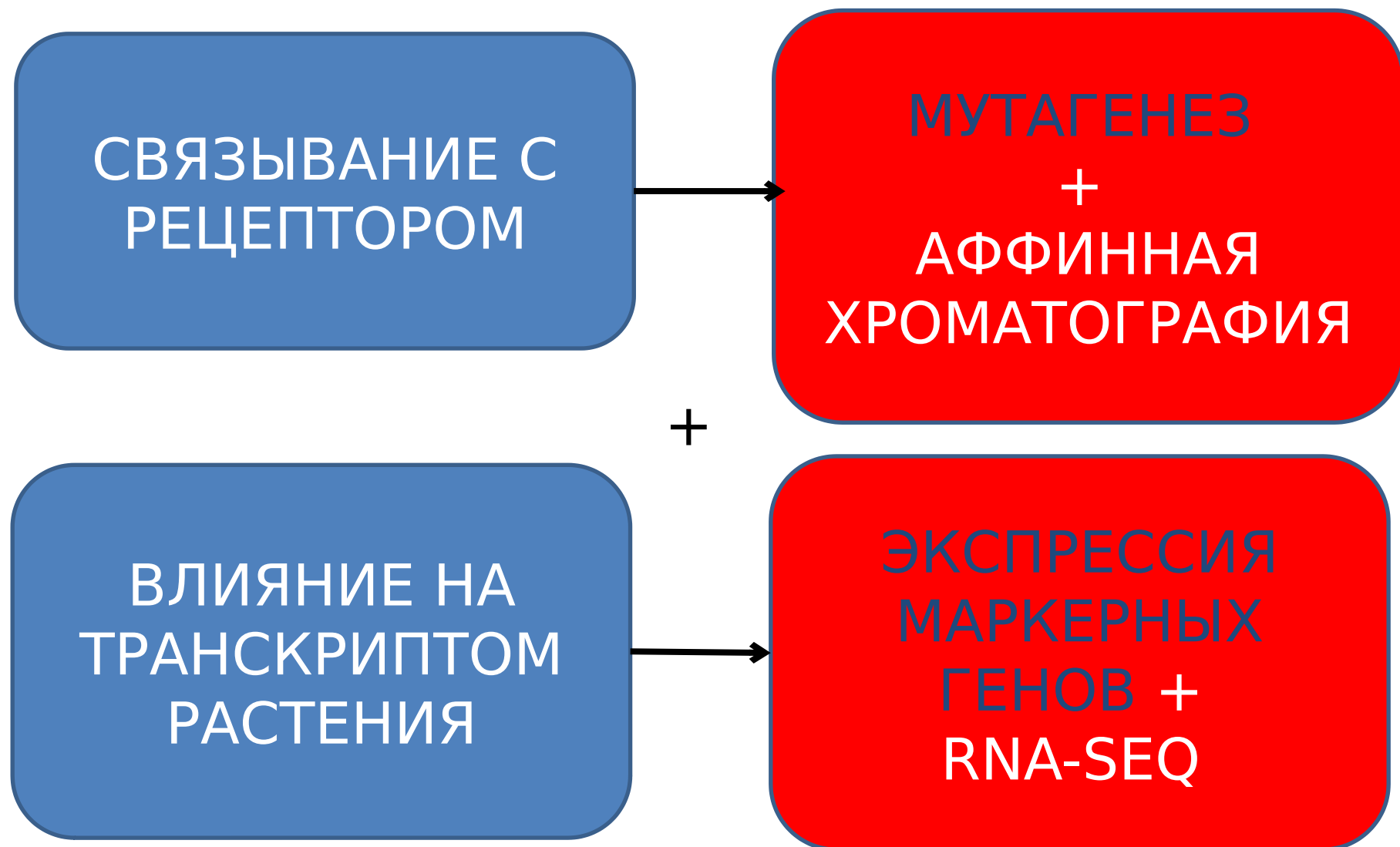


MF3 – бактериальный белок-индуктор

- Выделен из рост-стимулирующих бактерий *Pseudomonas fluorescens* и назван Microbial Factor 3 (MF3)
- Относится к семейству ферментов пептидил-пролил цис/транс изомераз FKBP-типа
- Индуктор устойчивости (в том числе системной) растений к вирусным, грибным и бактериальным патогенам



Подходы к изучению механизма действия MF3





Мутагенез АЦ MF3 методом аланинового сканирования (Weiss et al, 2000)

ИРGLEKALE GKAVGDDLEV AVEPEDAYG



AИРGLEKALE GKAVGDDLEV AVEPEDAYG

I**A**РGLEKALE GKAVGDDLEV AVEPEDAYG

И**A**GLEKALE GKAVGDDLEV AVEPEDAYG

ИР**A**LEKALE GKAVGDDLEV AVEPEDAYG

ИРG**A**EKALE GKAVGDDLEV AVEPEDAYG

...



Мутанты АЦ MF3 с пониженной защитной активностью против ВТМ

Дикий тип: защитная активность 100%

IPGLEKALE GKAVGDDLEV AVEPEDAYG

Мутант Дельта 11: защитная активность 51%

IPGLEKALE **G**KAVGDDLEV AVEPEDAYG

Мутант Дельта 20: защитная активность 48%

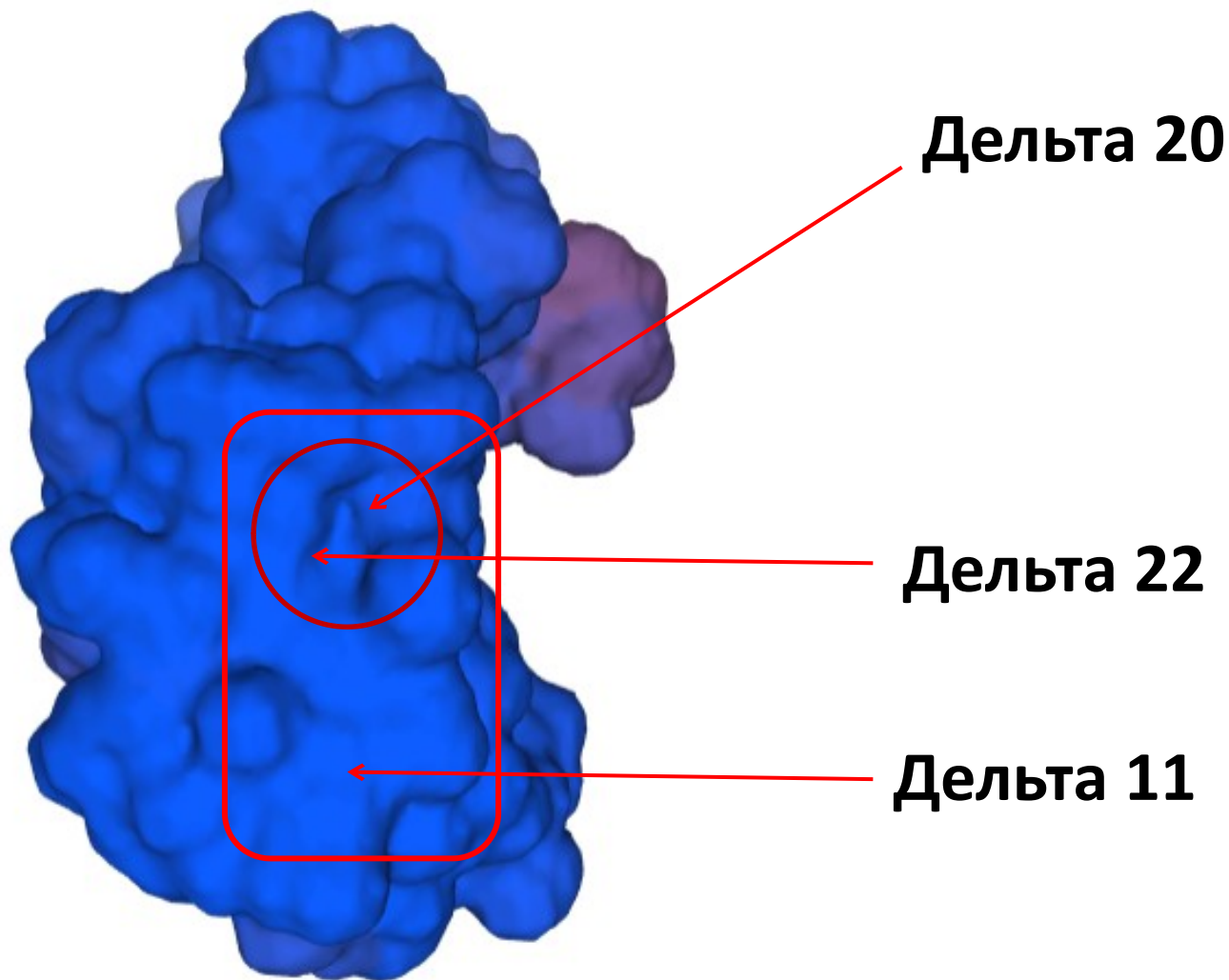
IPGLEKALE GKAVGDDLE**V** AVEPEDAYG

Мутант Дельта 22: защитная активность 38%

IPGLEKALE GKAVGDDLEV A**V**EPEDAYG

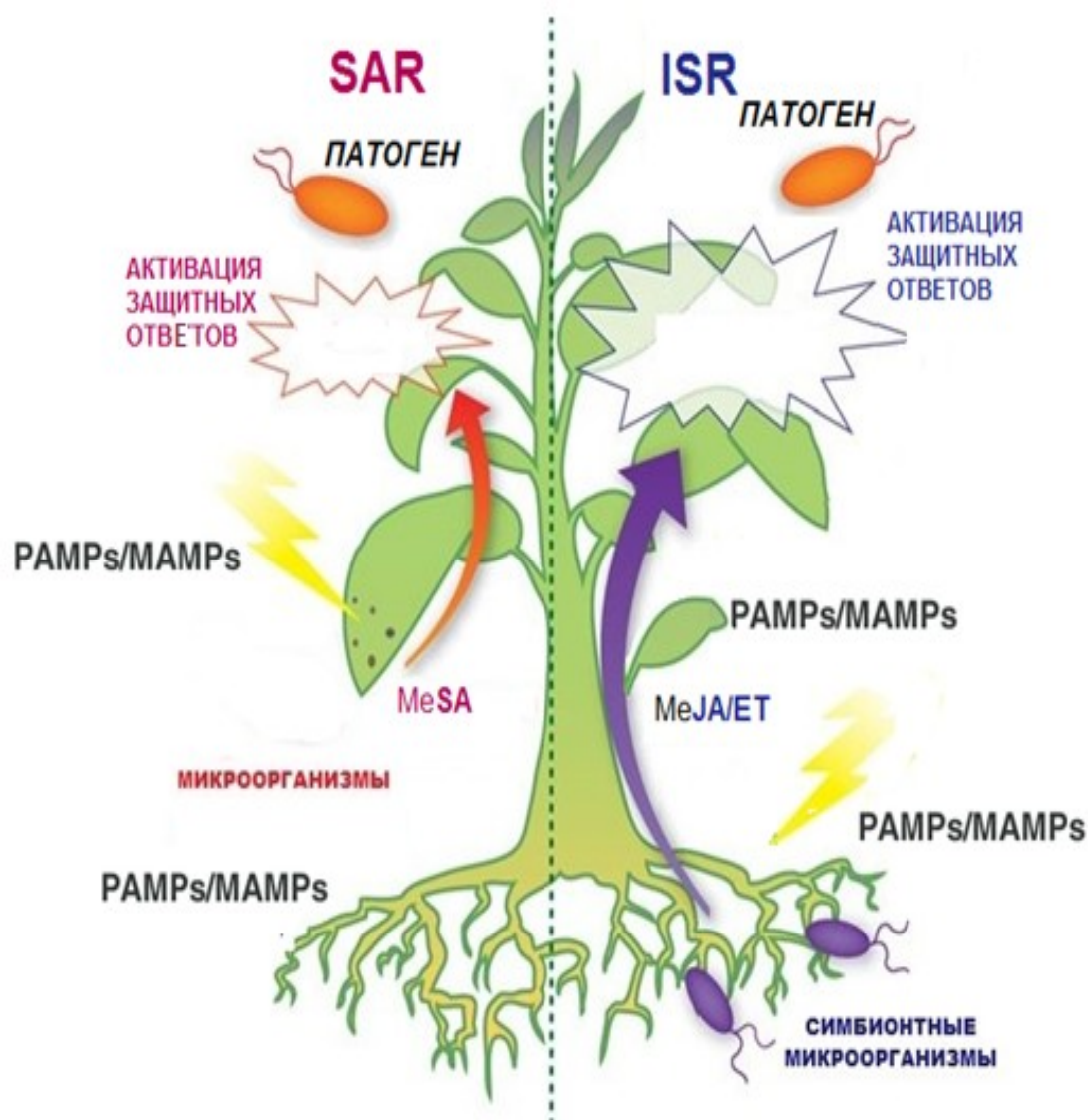


Молекулярная модель MF3 по методу гомологии (ресурс SWISS-MODEL)

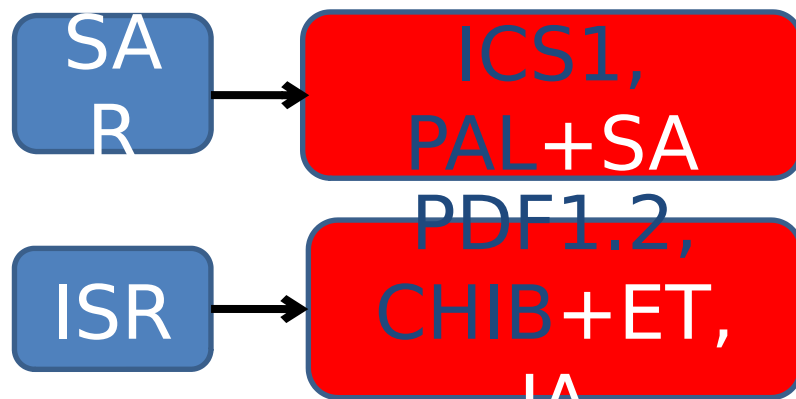




Общие механизмы индукции системной устойчивости у растений

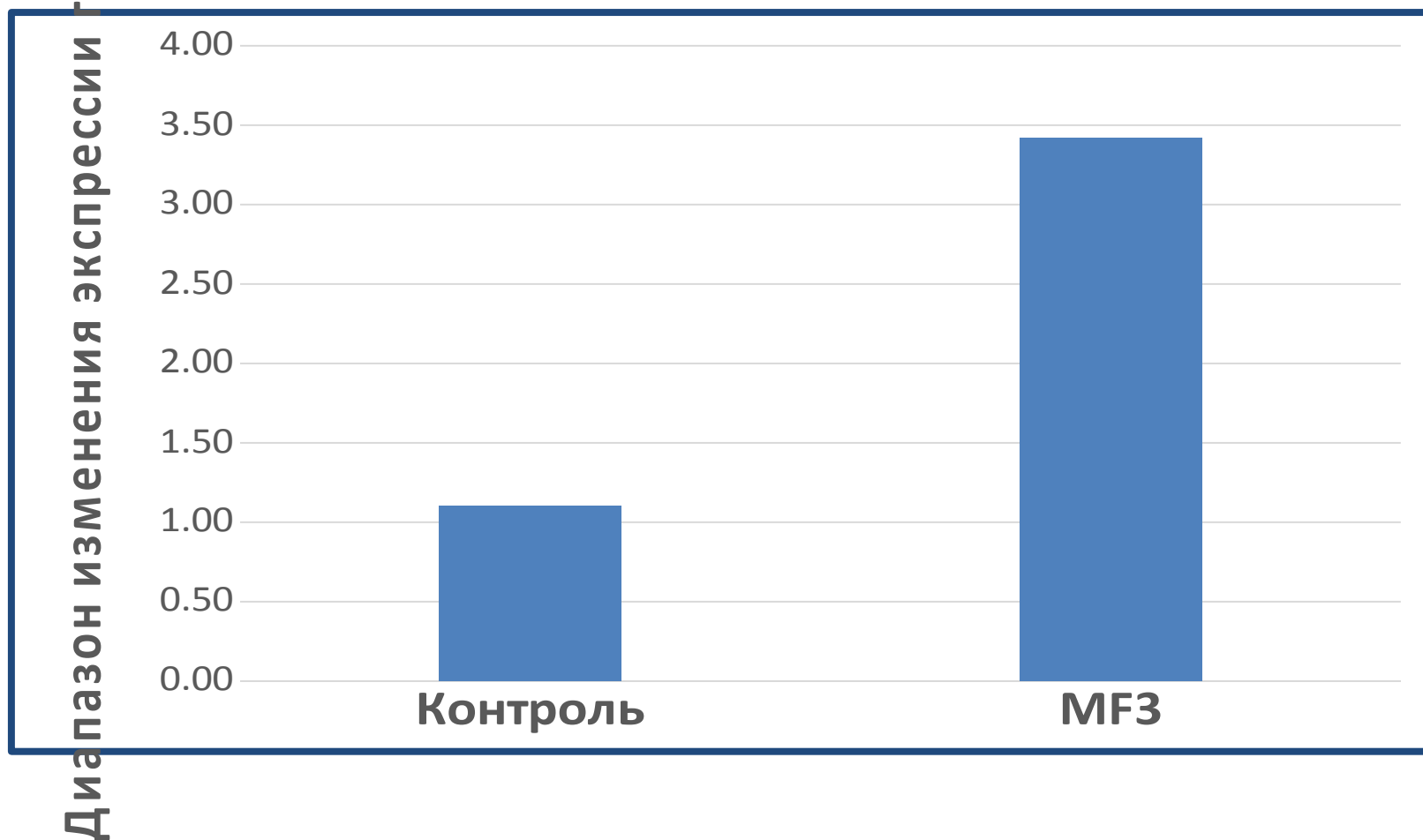


Ключевые
маркерные гены и
биохимические
маркеры СУ
растений:



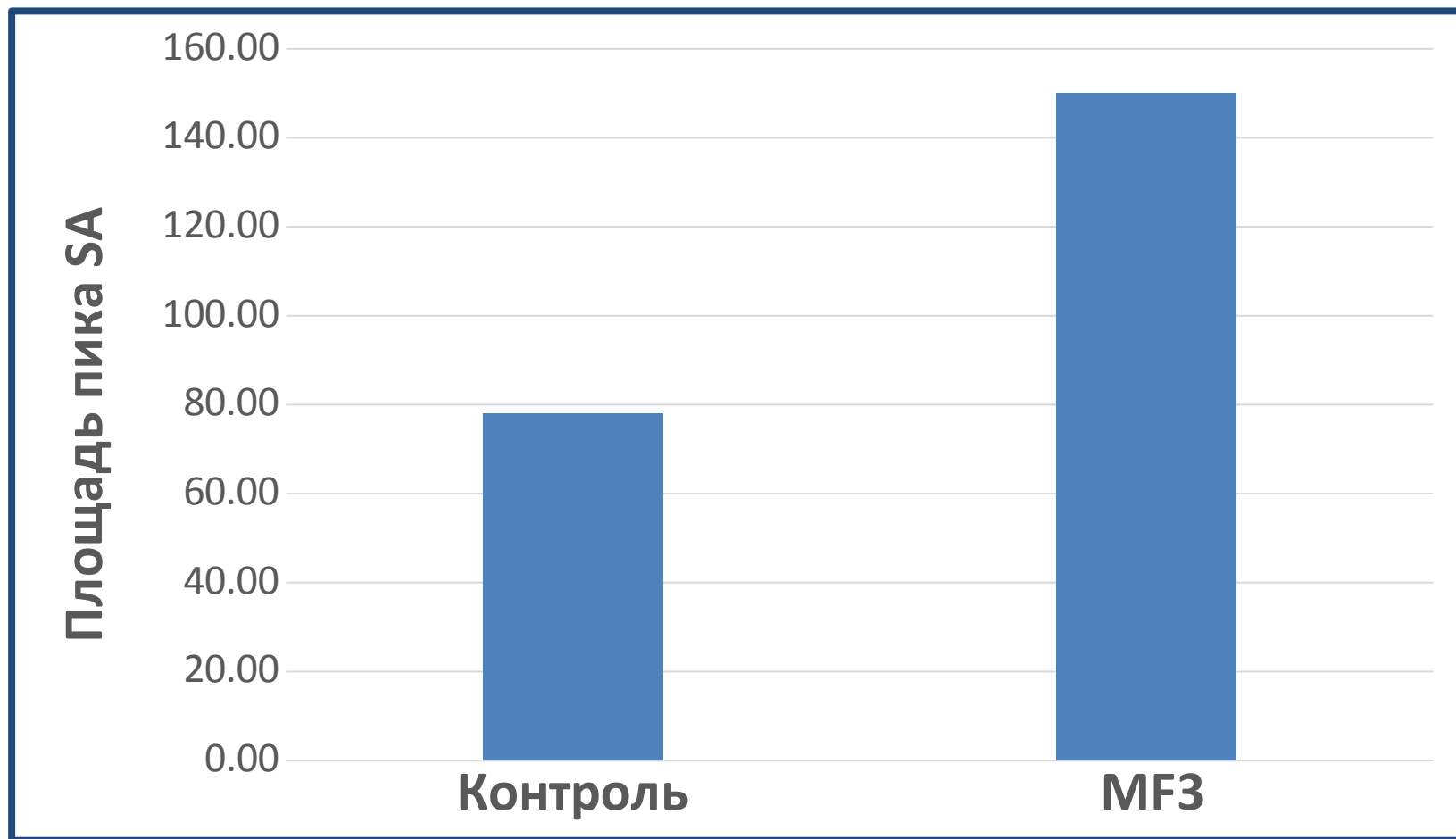


Изменение экспрессии гена *ics1* на вторые сутки в обработанных MF3 (100 мкг/мл) листьях табака сорта Ксанти





Накопление свободной SA на вторые сутки в обработанных MF3 (100 мкг/мл) листьях табака сорта Ксанти





Оценка совместного действия белков-индукторов MF2 и MF3

- MF2 выделен из бактерий *Bacillus thuringiensis* и является белком холодового шока
- MF2 - индуктор устойчивости растений к вирусным, грибным и бактериальным патогенам
- Изучение защитного действия смеси MF2 и MF3 важно для изучения возможности создания комплексного препарата на их основе



Влияние обработок MF2, MF3 или их смесью на развитие симптомов ВТМ

Вариант обработки*	Число некрозов						P _{95%}
	на каждом из 5 инокулированных листьев					в среднем на лист (M ± m)	
MF3 на правой половине	133	154	65	183	152	137 ± 19,7	0,02
MF3+MF2 на левой половинке	85	88	19	79	73	69 ± 2,2	
MF2 на правой половине	19	19	13	25	14	18 ± 2,1	0,004
MF2+MF3 на левой половинке	6	3	5	4	6	5 ± 0,6	
H ₂ O на правой половине	207	134	239	200	149	166 ± 19,4	0,4
H ₂ O на левой половине	189	129	197	104	186	161 ± 18,7	

*Концентрации MF3 и MF2 при применении по отдельности – 0,001 и 0,5 мг/мл соответственно; конечные концентрации MF3 и MF2 в смеси - 0,0005 и 0,25 мг/мл соответственно. Конечные концентрации общего белка при индивидуальной и комбинированной обработке листьев табака сорта Ксанти одинаковы.



Выводы

- Получены мутанты АЦ MF3 с пониженной защитной активностью
- Показано усиление экспрессии гена *ics1* и накопление свободной СК в листьях табака на вторые сутки после обработки MF3
- Обработка листьев табака смесью MF2 и MF3 обладает более высоким защитным действием против ВТМ, чем индивидуальные белки во вдвое более высокой концентрации-



Спасибо за внимание!