

## ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ БЕЛКА MF3 ИЗ *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*, ИНДУЦИРУЮЩЕГО УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К БОЛЕЗНЯМ

В.Г. Джавахия, Д.В. Ерохин, С.Б. Поплетаева

Всероссийский НИИ фитопатологии РАН, Россия, 143050, Московская обл., Большие Вяземы, ВНИИФ, владение 5

e-mail: dzhavakhiya@yahoo.com

Снижение степени загрязнения ксенобиотиками агроценозов могло бы быть достигнуто за счет использования в качестве альтернативного способа защиты сельскохозяйственных культур от болезней препаратов на основе биогенных индукторов системной устойчивости (СУ) растений. Белок MF3, выделенный из рост-стимулирующей бактерии *Pseudomonas fluorescens*, является одним из таких индукторов. Нами были определены и запатентованы структуры этого белка и кодирующего его гена, а также продемонстрирован защитный эффект MF3 в отношении основных типов патогенов различных сельскохозяйственных культур.

В процессе исследований молекулярных механизмов действия MF3 было выявлено его влияние на экспрессию генов табака, которые ассоциированы с его СУ к вирусу табачной мозаики (ВТМ), а также с помощью метода аланинового сканирования были предприняты попытки оценить влияние изменений структуры активного центра (АЦ) MF3 на его антивирусный эффект. Кроме того, исследовалось защитное действие индуктора MF3/MF2, представлявшего собой химерную структуру из двух доменов, в которой к N-терминальному участку рекомбинантного MF3 был присоединен также индуцирующий СУ к ВТМ рекомбинантный белок холодого шока MF2 из *Bacillus thuringiensis*, а также была оценена активность смеси двух этих индукторов.

Эксперименты по изучению влияния MF3 на уровень экспрессии генов табака, ассоциированных с СУ, показали, что обработка растений MF3 приводит к активации ряда маркерных генов индуцированной СУ растений (ISR).

При тестировании защитной активности мутантов MF3 с использованием патосистемы «та-

бак-ВТМ» было установлено, что амнокислотные замены в АЦ белка V60A и V62A приводили к почти 3-кратному, а замены G51A, L58A, ahD – к 2-кратному снижению СУ-индуцирующей активности, по сравнению с исходным MF3.

Сопоставление целевой активности смеси MF3 и MF2 с активностью каждого из этих индукторов показало, что защитный эффект смеси значительно превышает эффект индивидуальных белков, несмотря на их применение во вдвое более высокой, чем в смеси, концентрации.

Защитная активность химерного индуктора MF2/MF3 не уступала активности смеси индивидуальных белков, взятых в эквивалентных концентрациях, и примерно в 1,5 раза превышала активность каждого из них. Это свидетельствует о возможности использования вместо смеси MF2 и MF3 химерного индуктора MF3/MF2, получение которого с помощью гетерологичной экспрессии более технологично, чем приготовление смеси, требующее отдельного выращивания штамма-продуцента каждого из белков, а затем их отдельного выделения.

Перспективность практического применения MF3 подтверждают проведенные в трех различных почвенно-климатических зонах РФ полевые испытания биопрепарата, созданного на основе этого индуктора, которые показали его эффективность против Y-вируса картофеля при обработке производственных посадок данной культуры. В ходе этих испытаний отмечен также рост-стимулирующий эффект указанного биопрепарата.

Исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда (проект № 22-16-00154).