Заведующий лабораторией

Юрий Викторович Гоголев, д.б.н. Тел.:+7(843)2319035,

Сотрудники и аспиранты

Петрова Ольга Евгеньевна – с.н.с., к.б.н. Гоголева Наталья Евгеньевна – с.н.с., к.б.н. Горшков Владимир Юрьевич – в.н.с., к.б.н.

Воробьев Владимир Николаевич - н.с., к.б.н.

Коннова Татьяна Анатольевна - н.с., к.б.н.

Осипова Елена Валентиновна – с.н.с., к.б.н.

Парфирова Ольга Игоревна - м.н.с.

Направление исследований:

1. Изучение ферментов липоксигеназного каскада и защитных белков растений.
2. Исследование молекулярных механизмов растительно-микробного взаимодействия.
3. Изучение адаптивных стратегий микроорганизмов, связанных с формированием структурированных бактериальных популяций.

Основные результаты исследований:

1. Создана модель развития патосистемы табак - *Pectobacterium atrosepticum* (*Erwinia carotov ora* ssp . *atroseptica*), описывающая соответствие патологических изменений тканей и органов растений стадиям жизненного цикла фитопатогенной бактерии, сопряженным со специфической дифференцировкой микробных клеток. На основе полученной модели создана гипотеза, объясняющая развитие симптомов заболевания картофеля «черная ножка».

2. Впервые выявлен и охарактеризован новый тип мультиклеточных микробных структур, бактериальные эмболы, образуемые в сосудах ксилемы растений и вызывающие симптомы вилта при бактериозах растений. Показано их принципиальное отличие от биопленок по морфологии, генезису и составу межклеточного матрикса. Показано, что в состав матрикса включаются модифицированные полисахариды, извлеченные из клеточных стенок растений.

3. Разработан метод количественного определения транскрипционной активности генных локусов дифференцированно оценивающий синтез РНК с прямой и обратной цепи. Показано, что соотношение прямых и обратных транскриптов генов кворум-сенсинга у *P. atrosepticum* значительно изменяется на разных стадиях роста бактериальной популяции. Полученные данные расширяют представление о регуляторных сетях бактерий с участием некодирующих РНК.

4. Расширено представление об адаптивной стратегии грамотрицательных и грамположительных бактерий (*P. atrosepticum*, *Escherichia coli*, *Xanthomonas camp estris* , *Azospirillum brasilense* , *Salmonella enterica* , *Bacillus subtilis*) при дефиците субстрата. Установлено, что в условиях голодания в зависимости от исходной плотности популяции происходит уменьшение или увеличение ее численности, что обеспечивает стабилизацию плотности микроорганизмов на уровне 1 млн. клеток / мл. Показано участие в этом процессе кворум-сенсинга, продемонстрирована способность бактерий без внесения источников углерода и фосфора увеличивать численность не менее чем на три порядка за счет образования клеток редуцированного размера и нетипичной морфологии.

5. Выявлены сайты, определяющие механизм каталитического действия ферментов CYP 74. В результате единичных аминокислотных замен впервые проведены конверсии

ферментов разных функциональных групп: алленоксидсинтазы (дегидразы) LeAOS 3 томата в гидропероксидлиазу (изомеразу), дивинилэфирсиназы льна LuDES в алленоксидсинтазу.

6. Создана модель взаимодействия субстратов (жирных кислот и сложных липидов) с активными центрами липоксигеназ кукурузы ZmLOX3 и сои GmLOX1. Согласно модели позиционная (9- или 13-) специфичность липоксигеназных реакций не определяется позиционированием субстрата, а детерминируется специализированными структурно-функциональными характеристиками ферментов.

7. Впервые показано превращение (7S)-гидроперекиси гексадекатриеновой кислоты в дивиниловый эфир (динор-колнеленовую кислоту) и α-кетол при участии дивинилэфирсинтазы табака и алленоксидсинтазы кукурузы соответственно. Таким образом продемонстрировано участие (7S)-гидроперекисей в липоксигеназном каскаде растений.

8. Получена модель молекулярной филогении цитохромов P450, согласно которой семейство CYP74 произошло до дивергенции последнего общего предка эукариот и могло участвовать в начальных этапах эволюции цитохромов P450.

К числу приоритетных задач лаборатории относится разработка методических платформ для использования рекомбинантных белков в биохимических и биофизических экспериментах, а также проведения геномных и транскриптомных исследований методами количественного ПЦР-анализа и высокопроизводительного секвенирования следующего поколения (платформа Illumina MiSeq).

Избранные публикации:

1. Grechkin A.N., Mukhtarova L.S., Latypova L.R., Gogolev Y., Toporkova Y.Y., Hamberg M. / Tomato CYP 74 C 3

is
aMultifanctional
Enzyme
not
only
Synthesizing
Allene
Oxide
but
also
Catalyzing
its
Hydrolysis
and
Cyclization
//
Chembiochem
. -2008. -
V
. 9,
N
.15. -
P
249-2505.

2. Y.Y. Toporkova, Y. V. Gogolev, L.S. Mukhtarova, A.N. Grechkin. / Determinants governing the CYP74 catalysis: Conversion of allene oxide synthase into hydroperoxide lyase by site-directed mutagenesis // FEBS Lett. -2008. -Vol. 582. -P. 3423-3428.

3. A. Krushelnitsky, T. Zinkevich, N. Mukhametshina, N. Tarasova, Y. Gogolev, O. Gnezdilov, V. Fedotov, P. Belton, D. Reichert. / 13C and 15N NMR Study of the Hydration Response of T4 Lysozyme and rB-Crystallin Internal Dynamics // J. Phys. Chem. -2009, V. -113. -10022-10034.

4. Gorshkov V, Petrova O, Gogoleva N, Gogolev Y. / Cell-to-cell communication in the populations of enterobacterium Erwinia carotovora ssp. atroseptica SCRI1043 during adaptation to stress conditions // FEMS Immunol Med Microbiol. 2010.Vol.59. N3. P.378-385.

5. Chechetkin I.R., Osipova E.V., Antsygina L.L., Gogolev Y.V., Grechkin A.N. / Oxidation of glycerolipids by maize 9-lipoxygenase and its A562G mutant // Chem. Phys. Lipids – 2011, V. 164, No. 3, P. 216-220.

6. Mukhtarova LS, Mukhitova FK, Gogolev YV, Grechkin AN. / Hydroperoxide lyase cascade in pea seedlings: Non-volatile oxylipins and their age and stress dependent alterations. // Phytochemistry. 2011, Vol. 72, No. 4, P. 356-364.

7. Grechkin AN, Lantsova NV, Toporkova YY, Gorina SS, Mukhitova FK, Khairutdinov BI. / Novel Allene Oxide Synthase Products Formed via Favorskii-Type Rearrangement: Mechanistic Implications for 12-Oxo-10,15-phytodienoic Acid Biosynthesis. // ChemBioChem. 2011, Vol. 12(16), P. 2511-2517.

8. Gogolev Yuri V., Gorina Svetlana S., Gogoleva Natalia E., Toporkova Yana Y., Chechetkin Ivan R., Grechkin Alexander N. / Green leaf divinyl ether synthase: Gene detection, molecular cloning and identification of a unique CYP74B subfamily member // Biochimica et Biophysica Acta. 2012, Vol. 1821, P. 287 – 294.

9. Tarasova N., Gorshkov V., Petrova O., Gogolev Y. / Potato signal molecules that activate pectate lyase synthesis in *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 // World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2013. V. 29 (7). P. 1189 1196

10. Gorshkov V., Daminova A., Ageeva M., Petrova O., Gogoleva N., Tarasova N., Gogolev Y. / Dissociation of a population of *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 in tobacco plants: formation of bacterial emboli and dormant cells // Protoplasma. 2014. V. 251(3). P. 499–510. 499 510.

11. Toporkova Y.Y., Ermilova V.S., Gorina S.S., Mukhtarova L.S., Osipova E.V., Gogolev Y.V., Grechkin A.N. / Structure-function relationship in CYP74 family: conversion of divinyl ether synthases into allene oxide synthases by site-directed mutagenesis // FEBS Letters. 2013. – V. 587(16). – P. 2552 2558.

12. Petrova O.E., Gorshkov V., Daminova A., Ageeva M., Moleleki L.N., Gogolev Y. / Stress response in Pectobacterium atrosepticum SCRI1043 under starvation conditions: adaptive reactions at a low population density // Research in Microbiology. 2014. – V. 165. – P. 119–127.

13. Гоголева Н.Е., Шлыкова Л.В., Горшков В.Ю., Даминова А.Г., Гоголев Ю.В. / Влияние топологии генов регуляторной системы кворума *Pectobacterium atrosepticum* на их экспрессию // Молекулярная биология.
 2014. Т. 48. (4). С. 669 676.

14. Gorina S.S., Toporkova Y.Y., Mukhtarova L.S., Chechetkin I.R., Khairutdinov B.I., Gogolev Y.V., Grechkin A.N. / Detection and molecular cloning of CYP74Q1 gene: Identification of Ranunculus acris leaf divinyl ether synthase // Biochimica et Biophysica Acta Molecular and Cell Biology of Lipids. 2014. V. 1841(9). P. 1227-1233.

15. Nikolaichik E.A., Gorshkov V., Gogolev Y., Valentovich L., Evtushenkov A. / Genome Sequence of Pectobacterium atrosepticum Strain 21A // Genome Announcement. American Society for Microbiology. 2014. - V. 2 (5). P. 1 2.