

### **Заведующий лабораторией**

Юрий Викторович Гоголев, д.б.н. Тел.:+7(843)2319035, <sup>☐</sup>

### **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* 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 мультিকлеточных 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 campestris* ,

*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 СУР

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 (7

S

)-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  
aMultifunctional  
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. / <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N 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 A 562 G 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.