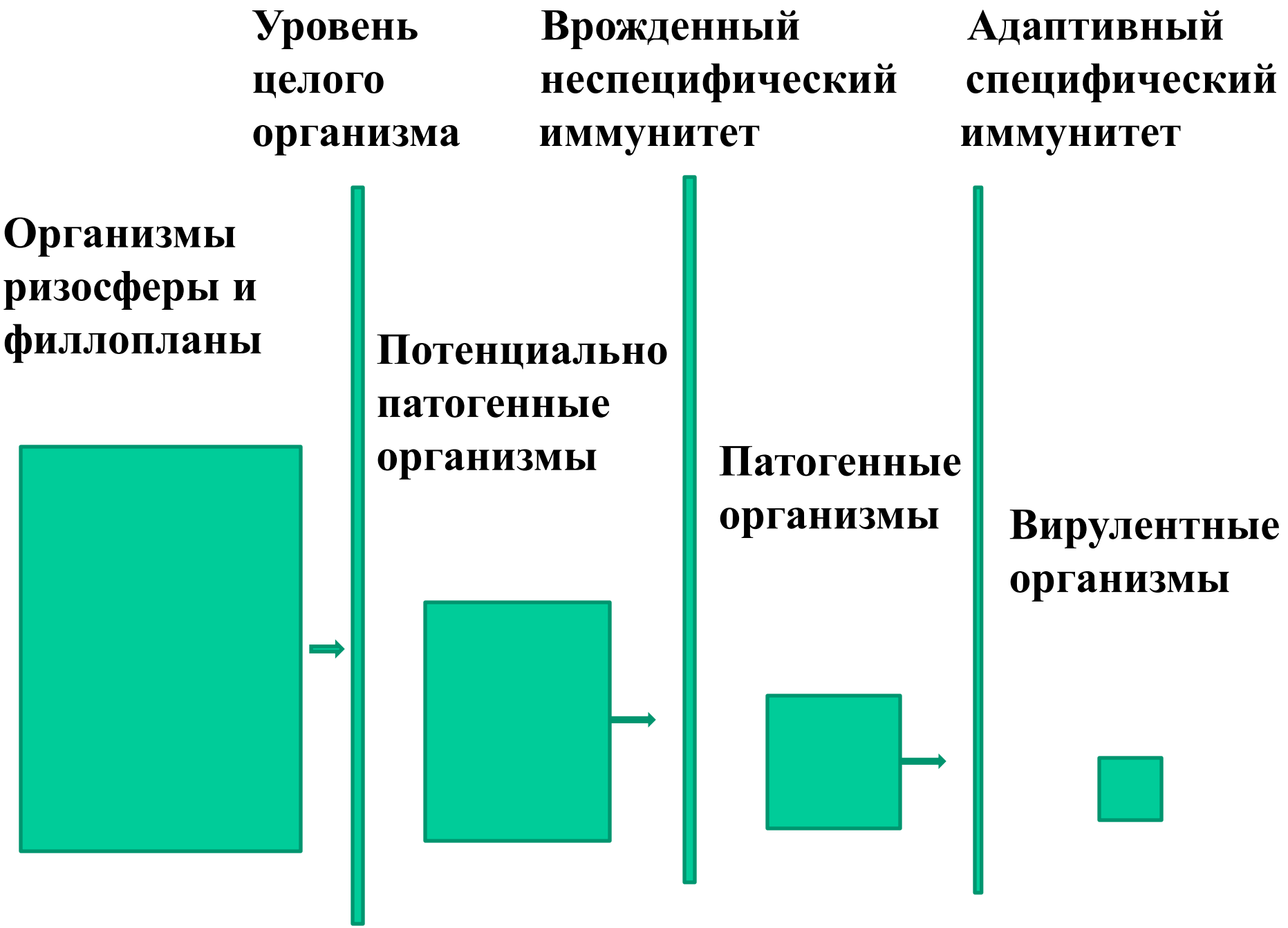

Уровень целого организма
Врожденный неспецифический иммунитет
Адаптивный специфический иммунитет
Организмы ризосферы и филлопланы
Потенциально патогенные организмы
Патогенные организмы
Вирулентные организмы

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ

Врожденный иммунитет

1. Защищает все виды позвоночных и беспозвоночных животных и растений.

2. Представляет собой первую линию клеточной защиты, ибо распознается сенсорами.

3. Контролируется небольшим числом генов (нет большого разнообразия рецепторов).

4. Рецепторы распознают не индивидуальный патоген, а группы патогенов (классы соединений, выделяемых патогенами).

Элиситоры

Английское «elicit» означает извлекать, вызывать, выявлять.

Элиситоры – это главным образом продукты патогенных микроорганизмов, которые *выявляются* растением как чужие, и контакт которых с растительными структурами *вызывает* иммунный ответ.

Элиситоры

Биотические **Абиотические**

Экзогенные **Эндогенные**

Специфические **Неспецифические**

Термин «элиситоры» уступил место более нейтральным терминам

<u>PAMP</u>s (pathogen-associated molecular patterns – молекулярные структуры, ассоциированные с патогенами) или, поскольку индуцировать защитные реакции могут и сапротрофные микроорганизмы, еще более нейтральному –

<u>MAMP</u>s (молекулярные структуры, ассоциированные с микроорганизмами). Молекулы MAMPs имеют структуры, отсутствующие у растений-хозяев и узнающиеся растением, как чужие.

Метаболиты самого растения, вызывающие протекание защитных реакций (эндогенные элиситоры) получили название DAMPs (damage-associated molecular patterns).

Патогенные микроорганизмы секретируют в растение ферменты деполимеразы, разрушающие полимеры, из которых построены клеточные покровы. Образующиеся в результате повреждения кутикулы или клеточной стенки олигомерные обрывки молекул и являются DAMPs.

Элиситоры

Липиды

Арахидоновая к-та
Эйкозопента-
еновая к-та

Полисахариды

Аминосахара
Глюканы
Ксилоглюканы
Олигогалакту-
рониды

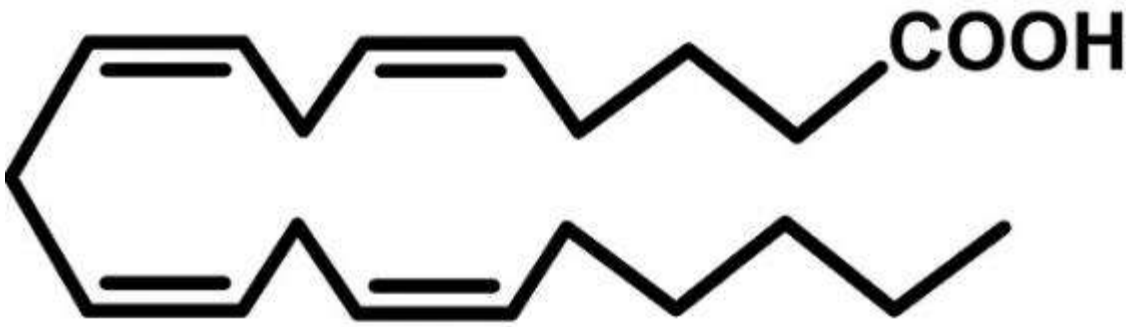
Белки

Элиситины
Флагеллины

Гликопротеины

Липиды

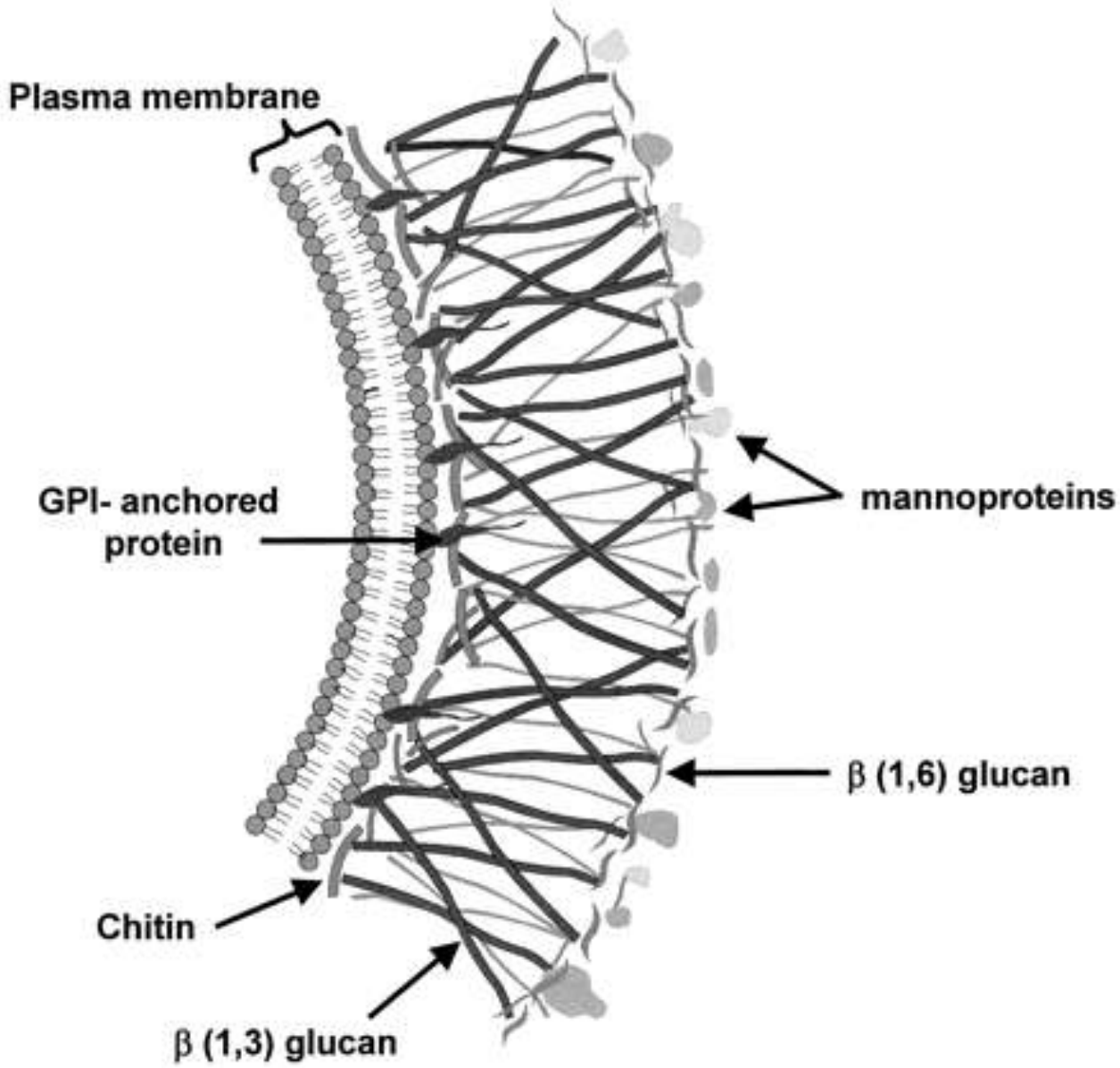
Наиболее хорошо исследованы липидсодержащие элиситоры *Phytophthora infestans* - две полиненасыщенные жирные кислоты:
арахидоновая – АК
Эйкозопентаеновая – ЭПК



АК и ЭПК отсутствуют у растений, и настоящих грибов, но синтезируются клетками оомицетов.

DAMPs липидной природы – обрывки кутина – образуются в результате деградации кутина грибными кутиназами

Клеточная стенка грибов

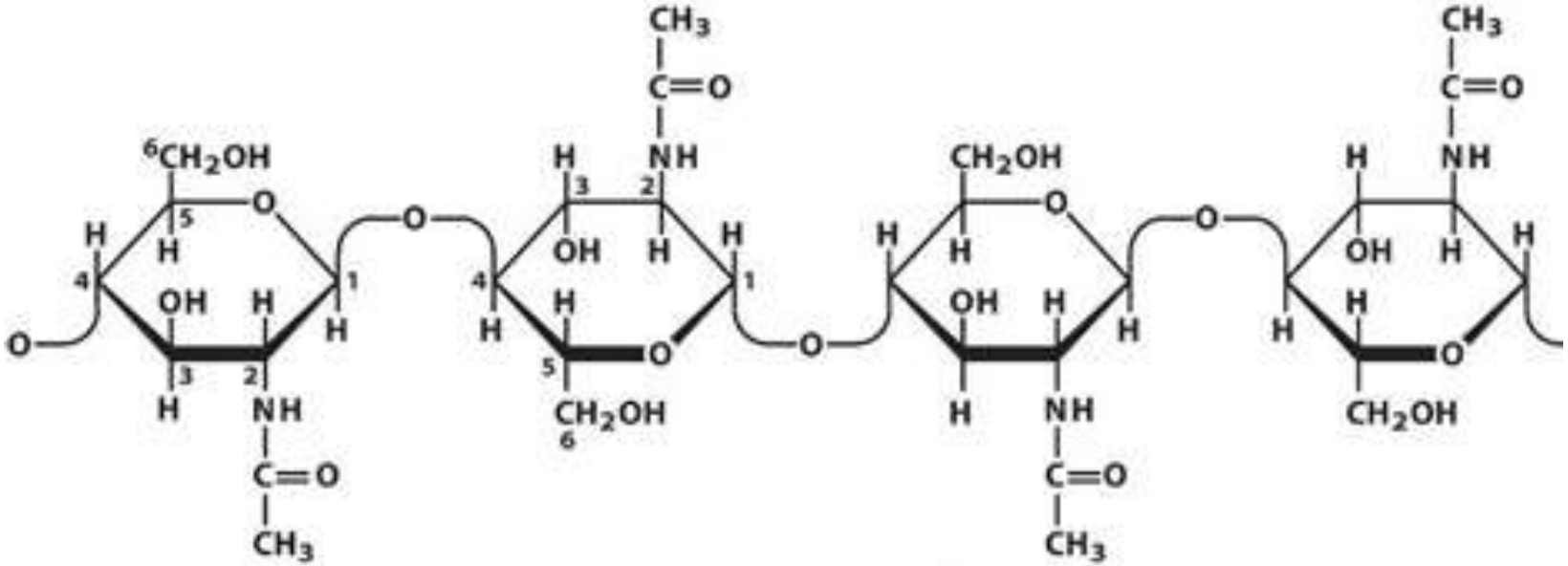


Аминосахара

В состав клеточных стенок настоящих грибов входят линейный полимер ацетилглюкозамина – хитин и его деацитилированное производное – хитозан.

В стенках грибов хитин связан ковалентными и ионными связями с другими полисахаридами, пигментами и белками, что и придает ему особую устойчивость к литическим ферментам.

Хитин и хитозан обладают элиситорными свойствами и вызывают протекание защитных реакций у разных растений



Фрагмент молекулы хитина

Фрагмент молекулы хитозана

Глюканы

Бета-глюканы – главный компонент клеточных стенок фитофторовых оомицетов (составляют до 80% сухого веса стенок), но присутствует и в стенках настоящих грибов. У оомицетов они включают β-1→4 глюкан (целлюлозу) и нерастворимые β-1→6 глюканы. В определенных стадиях жизненного цикла образуются и β-1→3 растворимые запасные глюканы (ламинарин).

β-1→3 глюканы *Phytophthora infestans* также являются иммуномодуляторами: среди них есть элиситоры, индуцирующие устойчивость, и супрессоры, снижающие устойчивость у сортов картофеля, устойчивых к фитофторозу

Обнаружено взаимное влияние полисахаридных и липидных элиситоров. Глюканы, будучи более слабыми элиситорами, чем эйкозаноиды, усиливают элиситорную активность арахидоновой кислоты в 10-100 раз по сравнению с ее применением в чистом виде.

Ксилоглюканы – основной компонент гемицеллюлозы, входящей в состав клеточных стенок растений.

Под действием грибных или бактериальных глюканаз образуются ксилоглюкановые олигомеры (DAMPs), содержащие ксилозу, глюкозу и галактозу.

Для проявления элиситорной активности необходимо наличие цепочки, содержащей не менее 12 моносахаридных молекул и терминальной молекулы фукозы.

Олигогалактурониды – продукты расщепления молекул пектина пектиназами (пектат-лиазами, полигалактуроназами) микроорганизмов.

Для проявления элиситорных свойств этих DAMPs необходима степень полимеризации их молекул 9-15.

Белки и гликопротеины

Элиситины

Семейство гидрофильных белков с м.м. около 10 kD. Образуются *Phytophthora* и *Pythium*. Все элиситины имеют высокую степень гомологии.

Изоляты *Phytophthora parasitica*, не поражающие табак, продуцируют кислый элиситин *паразитицеин*. Патогенные для табака изоляты не образуют этот пептид.

Элиситины способны соединяться со стеринами и переносить их между искусственными мембранами, причем биологической активностью обладают только молекулы, нагруженные стерином.

Оомицеты из родов *Pythium* и *Phytophthora* не способны синтезировать стерины, необходимые для формирования спороношения (беспологo и полового) и для патогенности.

Элиситины необходимы для транспорта стеринов из зараженного растения в мицелий.

***P. cryptogea* и *P. capsici* продуцируют два близкородственных элиситина – криптогеин и капсицеин. Обработка ими защищает табак от патогенных штаммов *P. nicotianae,* не продуцирующих элиситины.**

Криптогеин вызывает образование некрозов на табаке в концентрации 1 мкг на растение, тогда как капсицеин в 50 раз менее активен.

Элиситины возбудителя фитофтороза картофеля *P. infestans* синтезируются под контролем *INF-* генов, которые экспрессируются в зараженных растениях и в мицелии (но не в спорах), растущем на искусственной среде.

NPP1 *Phytophthora parasitica* и PsojNIP *P. sojae*

Ортологичные белки, индуцирующие некрозы у двудольных растений, включая хозяев этих грибов.

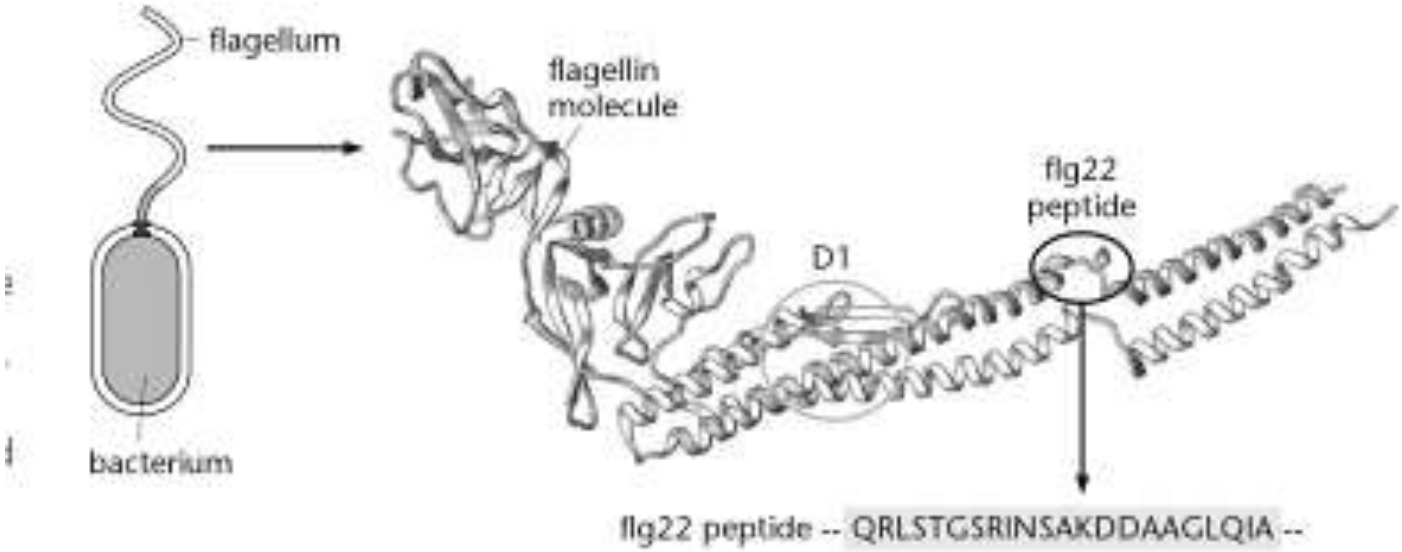
Ген, контролирующий синтез PsojNIP-белка, экспрессируется в поздней стадии инфекции сои, продуцируя токсин, который обеспечивает колонизацию ткани хозяина во время некротрофной фазы роста.

Ферменты

Элиситорной активностью по отношению к двудольным растениям обладает также связанный с клеточной стенкой фитофторовых оомицетов фермент трансглютаминаза с мм 42 kDa, точнее – его 13-kDa фрагмент (Pep-13). Другой фермент грибного происхождения – 22 kD ксиланаза (EIX) индуцирует в сортах табака и томата биосинтез этилена, потерю (lekage) электролитов и другие симтомы иммунного ответа.

Флагеллины

Белковые субъединицы, из которых построены бактериальные жгутики.



Гликопротеины (ГП).

Из клеточных стенок *P. megasperma* выделен ГП, обладающий способность индуцировать защитный ответ в семядолях сои. Однако концентрация ГП, требующаяся для индуцирования, была значительно более высокой, чем у описанных выше β-1→3-глюкана и глюкоманнана.

Активность ГП полностью подавлялась действием ингибитора углеводов, тогда как обработка проназой не затрагивала индуцирующую активность. Поэтому возможно, что для проявления элиситорной способности необходима углеводная, а не белковая часть молекулы.

Рецепторы
(pattern recognition receptors, PRR)

Receptor like kinases (RLKs)

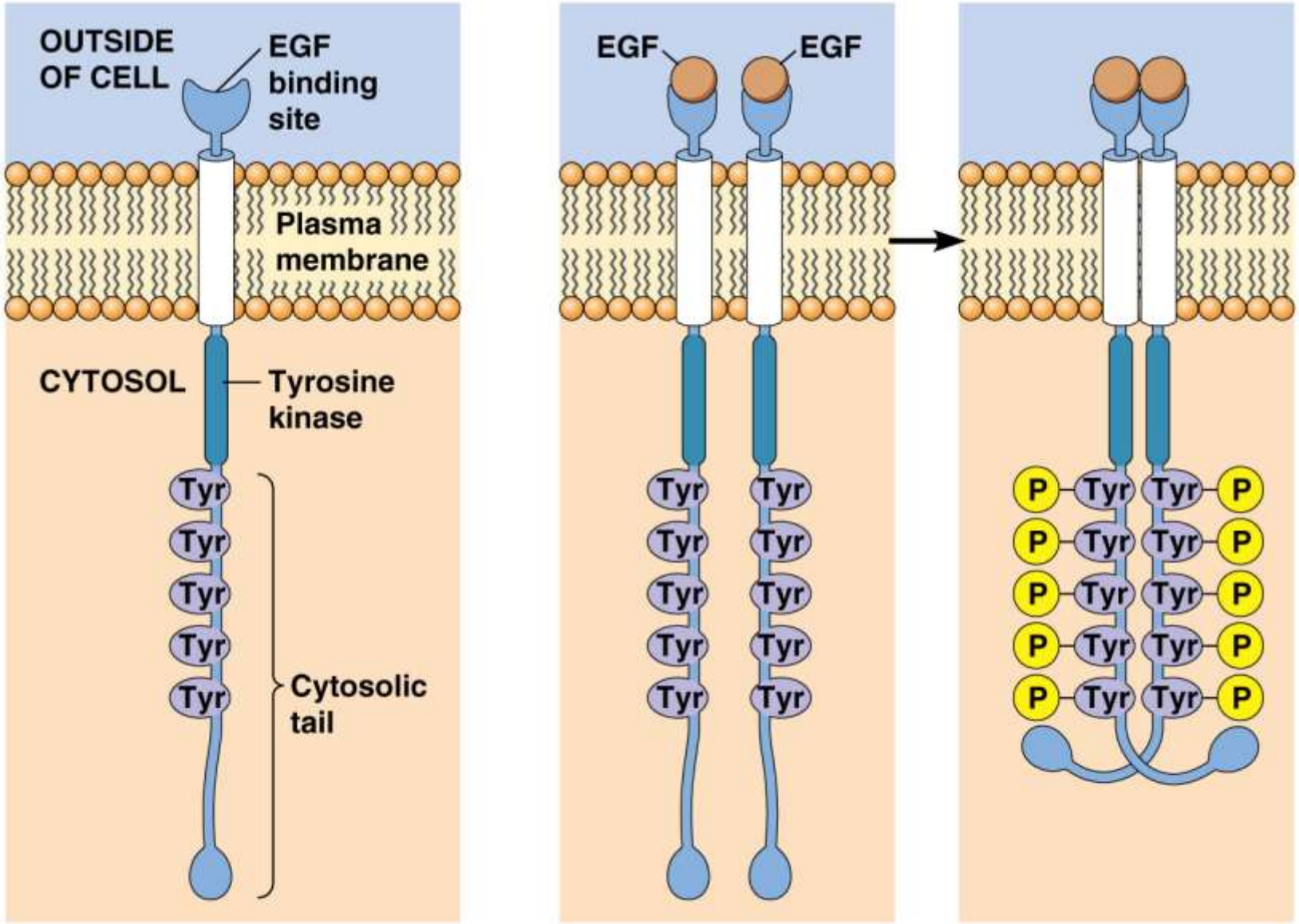
Receptor like proteins (RLKs)

Классификация PRR

Leucine-rich repeat domain (LRR)

Lysine domain (LysM)

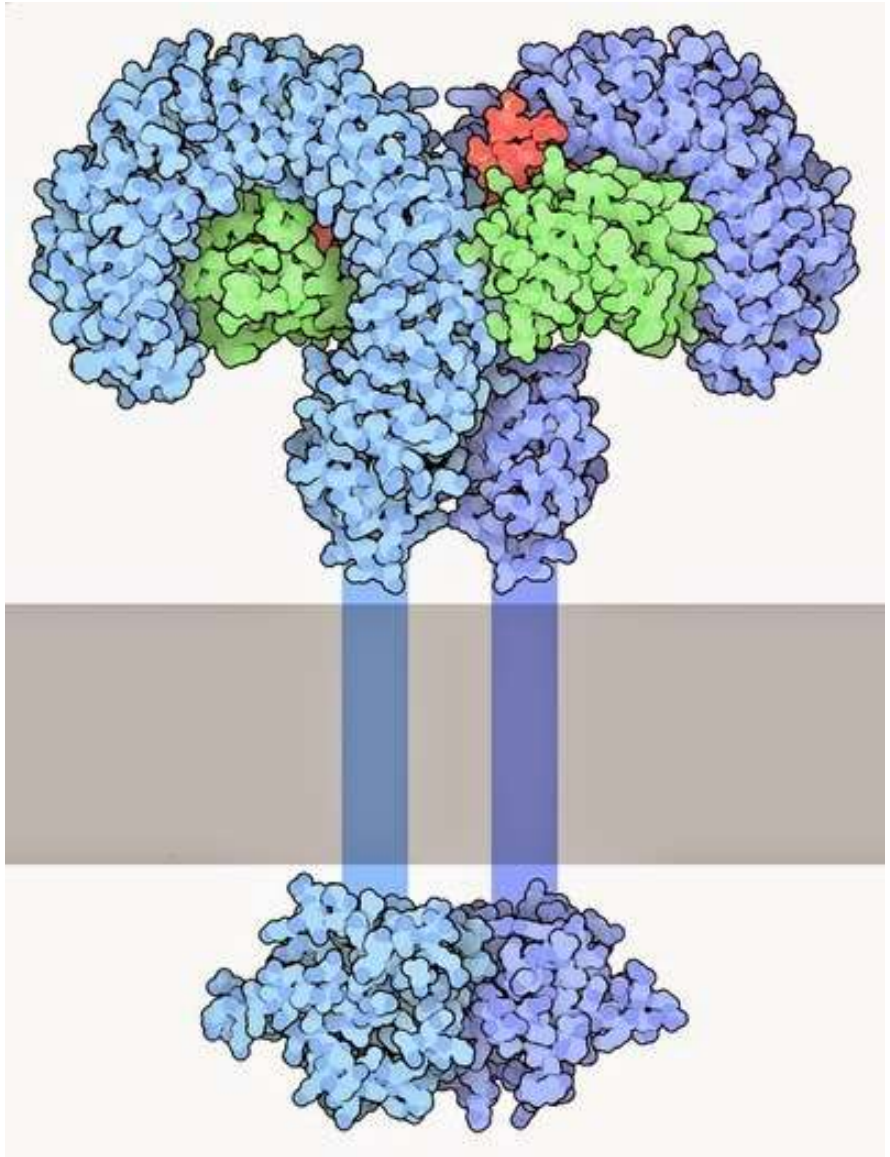
Lectin domain (epidermal growth factor-like domain, EGF)

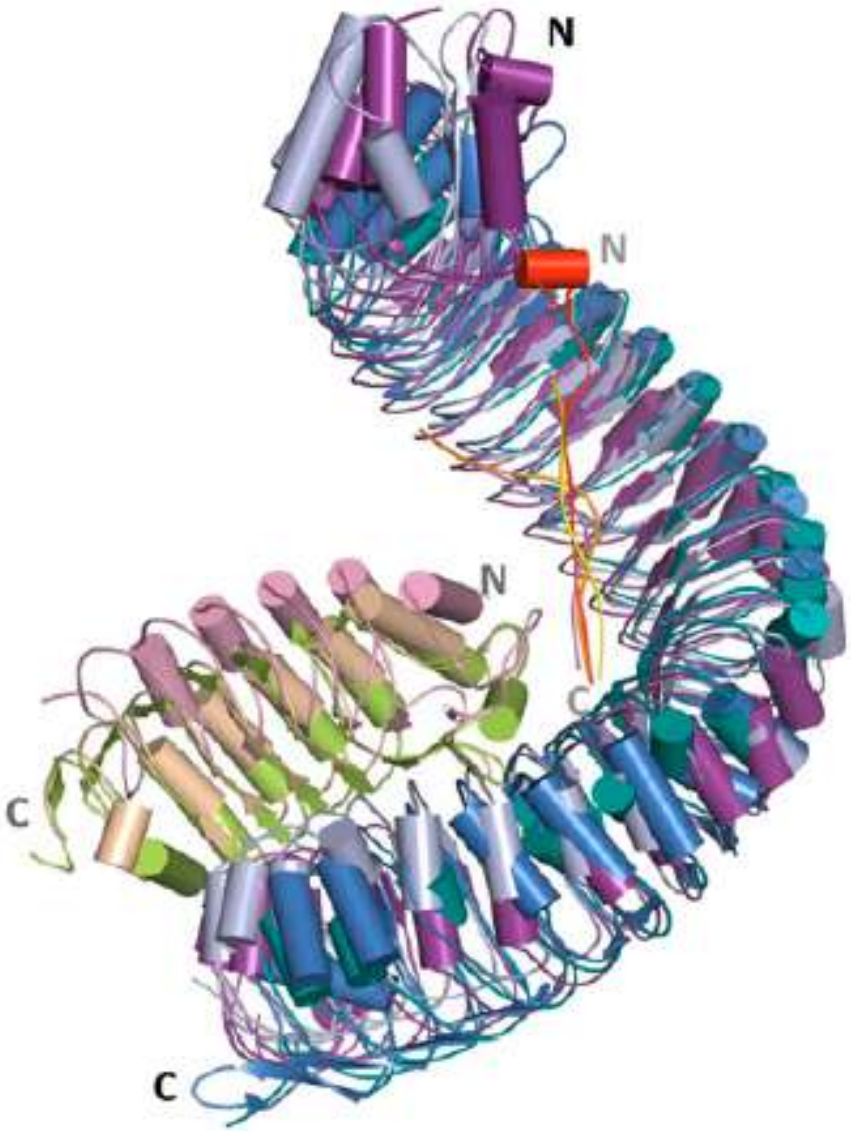


(a) Structure of the epidermal growth factor (EGF) receptor

(b) Activation of the EGF receptor

© 2012 Pearson Education, Inc.





Ligand-Induced Heterodimerization between LRR-RKs and SERKs.

Table 1. Known and Probable PRRs Involved in Plant Immunity

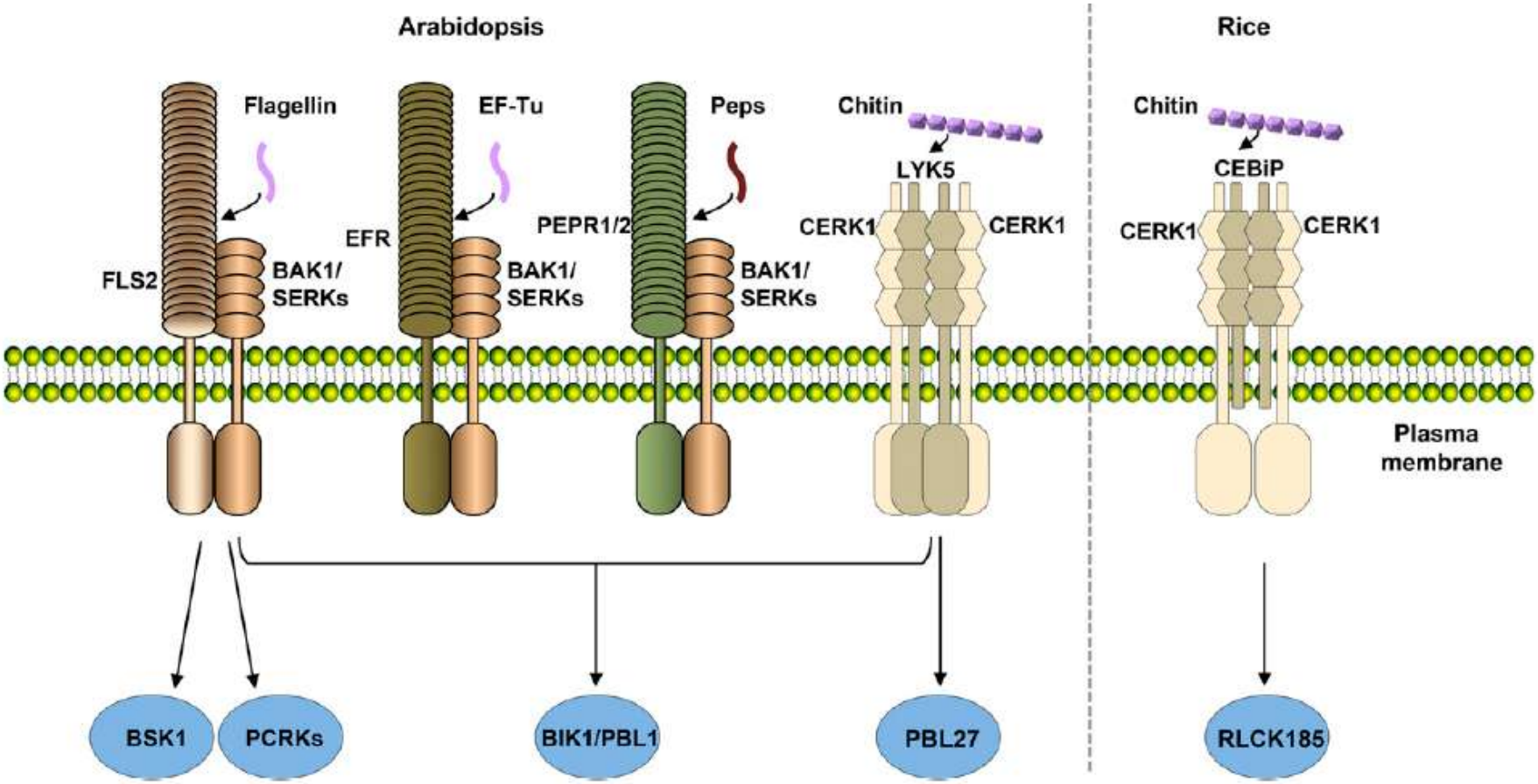
Name	Family	Ligand	Plant	References
FLS2	LRR-RK	flg22	Arabidopsis	Gómez-Gómez and Boller (2000); Bauer et al. (2001)
FLS3	LRR-RK	flgII-28	Tomato	Hind et al. (2016)
EFR	LRR-RK	elf18	Arabidopsis	Kunze et al. (2004); Zipfel et al. (2006)
PEPR1/2	LRR-RK	Peps	Arabidopsis	Yamaguchi et al. (2006); Huffaker et al. (2006); Huffaker and Ryan (2007); Krol et al. (2010); Yamaguchi et al. (2010)
XA21	LRR-RK	RaxX21-sY	Rice	Pruitt et al. (2015)
DORN1	Lectin-RK	eATP	Arabidopsis	Choi et al. (2014)
LORE	Lectin-RK	LPS	Arabidopsis	Ranf et al. (2015)
WAK1	EGF-Like-RLK	OGs	Arabidopsis	Decreux and Messiaen (2005); Brutus et al. (2010)
XPS1	LRR-RK	xup25	Arabidopsis	Mott et al. (2016)
OsCERK1	LysM-RLK	Chitin	Rice	Shimizu et al. (2010)
CEBiP	LysM-RP	Chitin	Rice	Kaku et al. (2006)
LYM1/3	LysM-RP	PGNs	Arabidopsis	Willmann et al. (2011)
LYP4/6	LysM-RLP	PGNs/chitin	Rice	B. Liu et al. (2012)
RLP23	LRR-RP	nlp20	Arabidopsis	Bi et al. (2014); Albert et al. (2015)
NbCSPR	LRR-RP	csp22	*N. benthamiana*	Saur et al. (2016)
LeEix1	LRR RP	Eix	Tomato	Bar et al. (2010)
LeEix2	LRR-RP	Eix	Tomato	Ron and Avni (2004)
ReMax/RLP1	LRR-RLP	eMax	Arabidopsis	Jehle et al. (2013)
Ve1	LRR-RLP	Ave1	Tomato	de Jonge et al. (2012)
Cf-2	LRR-RLP	Avr2	Tomato	Dixon et al. (1996); Luderer at al. (2002)
Cf-4	LRR-RLP	Avr4	Tomato	Joosten et al. (1997); Thomas et al. (1997)
Cf-4E	LRR-RLP	Avr4E	Tomato	Takken et al. (1999); Westerink et al. (2004)
Cf-9	LRR-RLP	Avr9	Tomato	Van den Ackerveken et al. (1992); Jones et al. (1994)
Cf-5	LRR-RLP	Unknown	Tomato	Dixon et al. (1998)
RLP30	LRR-RLP	SCFE1	Arabidopsis	Wang et al. (2008); Zhang et al. (2013)
ELR	LRR-RLP	Elicitin	Potato	Du et al. (2015)

Known PRRs refer to genetically confirmed receptors whose binding to patterns has been biochemically demonstrated, whereas probable PRRs refer to likely receptors with genetically confirmed roles in pattern recognition, but for which direct binding to patterns remains to be shown.

Table 2. Other RLKs and RLPs Involved in Plant Immunity

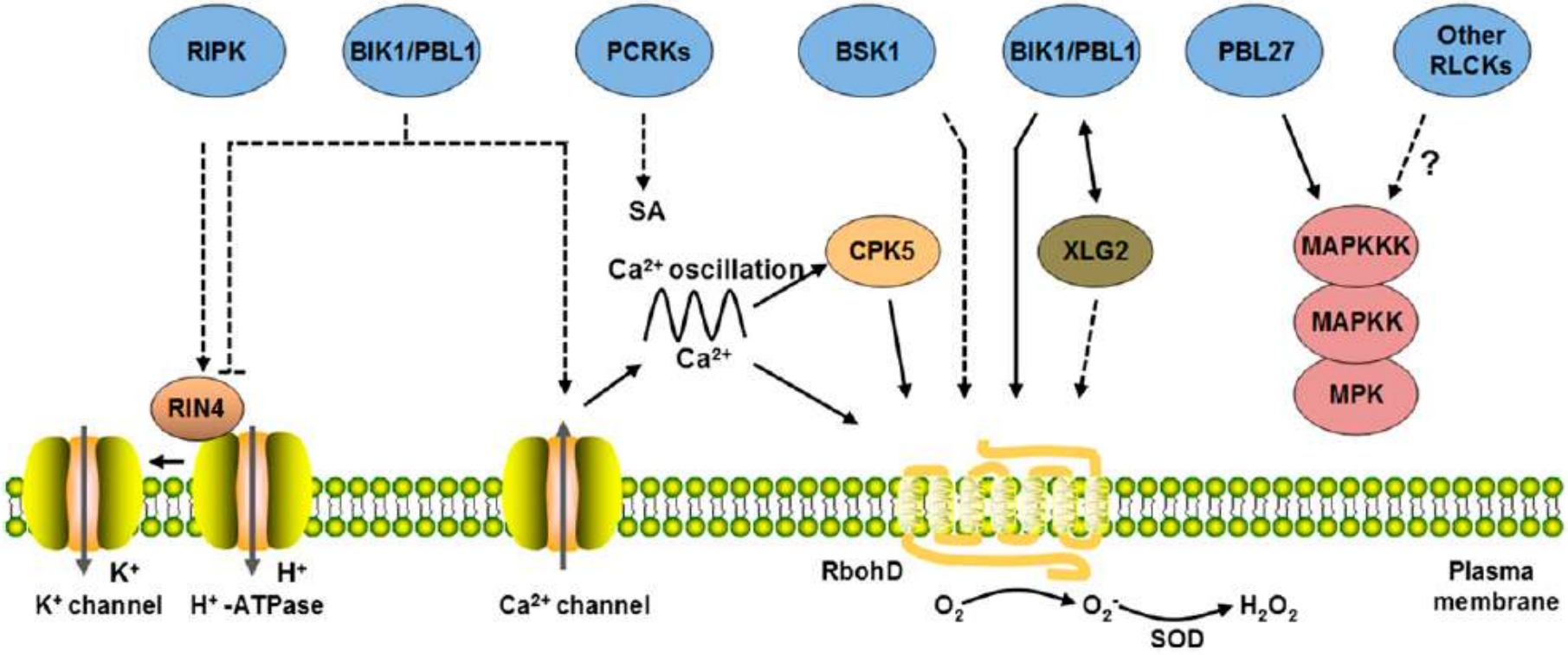
Name	Family	Function	Plant	References
BAK1	LRR-RLK	PRR coreceptor	Arabidopsis	Chinchilla et al. (2007); Heese et al. (2007); Schulze et al. (2010); Postel et al. (2010); Roux et al. (2011); Bar et al. (2010)
SERK4	LRR-RLK	PRR coreceptor	Arabidopsis	Roux et al. (2011)
SlSERK1	LRR-RLK	PRR coreceptor	Tomato	Mantelin et al. (2011)
BIR1	LRR-RLK	Interacts with PRR coreceptor	Arabidopsis	Gao et al. (2009)
BIR2	LRR-RLK	Interacts with PRR coreceptor	Arabidopsis	Halter et al. (2014)
SOBIR1	LRR-RLK	Scaffold for PRR	Arabidopsis, tomato	Gao et al. (2009); Zhang et al. (2013, 2014); Albert et al. (2015); Liebrand et al. (2013)
FER	Malectin-RK	RALF receptor, scaffold for PRR	Arabidopsis	Escobar-Restrepo et al. (2007); Kessler et al. (2010); Haruta et al. (2014); Stegmann et al. (2017)
CRK28	Cys-rich RLK	Interacts with PRR	Arabidopsis	Yadeta et al. (2017)
IOS1	LRR-RLP	Interacts with PRR	Arabidopsis	Yeh et al. (2016)
PSKR1	LRR-RK	PSKa receptor	Arabidopsis	Mosher et al. (2013)
PSY1R	LRR RLK	PSY1 receptor	Arabidopsis	Mosher et al. (2013)
ERECTA	LRR-RLK	Unknown	Arabidopsis	Llorente et al. (2005)
SRF3	LRR-RLK	Unknown	Arabidopsis	Alcázar et al. (2010)
XA26	LRR-RLK	Unknown	Rice	Sun et al. (2004)
ds1	LRR-RLK	Unknown	Sorghum	Kawahigashi et al. (2011)
Bti9	LysM-RLK	Unknown	Tomato	Zeng et al. (2012)
SlLyk13	LysM-RLK	Unknown	Tomato	Zeng et al. (2012)
THE1	Malectin-RLK	Unknown	Arabidopsis	Hématy et al. (2007)
Pi-d2	Lec-RLK	Unknown	Rice	Chen et al. (2006)
LecRK-I.9	Lec-RLK	Unknown	Arabidopsis	Gouget et al. (2006); Bouwmeester et al. (2011)
LecRK-V.5	Lec-RLK	Unknown	Arabidopsis	Desclos-Theveniau et al. (2012)
LecRK-VI.2	Lec-RLK	Unknown	Arabidopsis	Singh et al. (2012)
NgRLK1	Lectin-RLK	Interacts with elicitin	*N. glutinosa*	Kim et al. (2010)
LecRK1	Lectin-RLK	Unknown	*N. attenuata*	Gilardoni et al. (2011)
NbLRK1	Lectin-RLK	Interacts with elicitin	*N. benthamiana*	Kanzaki et al. (2008)
WAKL22	EGF-Like-RLK	Unknown	Arabidopsis	Diener and Ausubel (2005)
OsWAK1	EGF-Like-RLK	Unknown	Rice	Li et al. (2009)
TaRLK-R1,2,3	Other	Unknown	Wheat	Zhou et al. (2007)
SNC4	Other	Unknown	Arabidopsis	Bi et al. (2010)
LRK10	S-domain-RLK	Unknown	Wheat	Feuillet et al. (1997)
SNC2	LRR-RLP	Unknown	Arabidopsis	Y. Zhang et al. (2010)
RLP52	LRR-RLP	Unknown	Arabidopsis	Ramonell et al. (2005)

Includes RLKs/RLPs that regulate plant immunity through an unknown molecular function or function other than PRRs.



RLCKs Differentially Mediate Immune Signaling from Different PRRs.

RLCK – receptor-like cytoplasmic kinases



RLCKs Differentially Regulate Downstream Signaling.

В результате фосфорилирований протеинкиназ сигнал многократно усиливается. Центральная роль в этих процессах принадлежит митогенактивирующим протеинкиназам серин-треонинового типа (МАРК). МАР-киназный путь трансдукции сигнала представляет собой каскад, состоящий из трех сигнальных модулей. Фосфорилирование последней в этом каскаде – МАРК - обеспечивает МАРК-киназа (МАРКК), которая, в свою очередь фосфорилируется МАРКК-киназой (МАРККК). Фосфорилированная МАРК активирует фактор регуляции транскрипции (WRKY у растений), который взаимодействует с промоторными участками генов, разрешающими или запрещающими их экспрессию.

Каскад из трех сигнальных модулей

↓

МАРКК-Киназа

↓

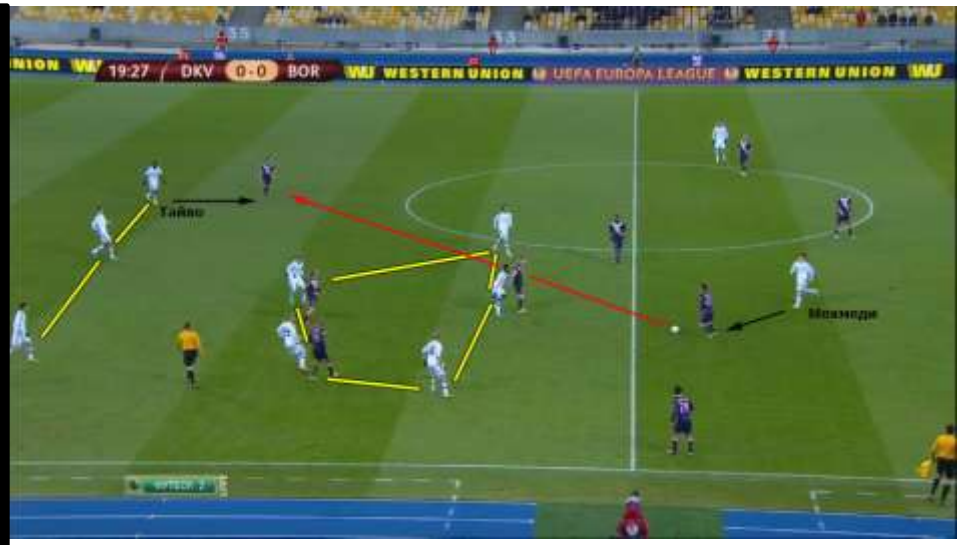
МАРК-Киназа

↓

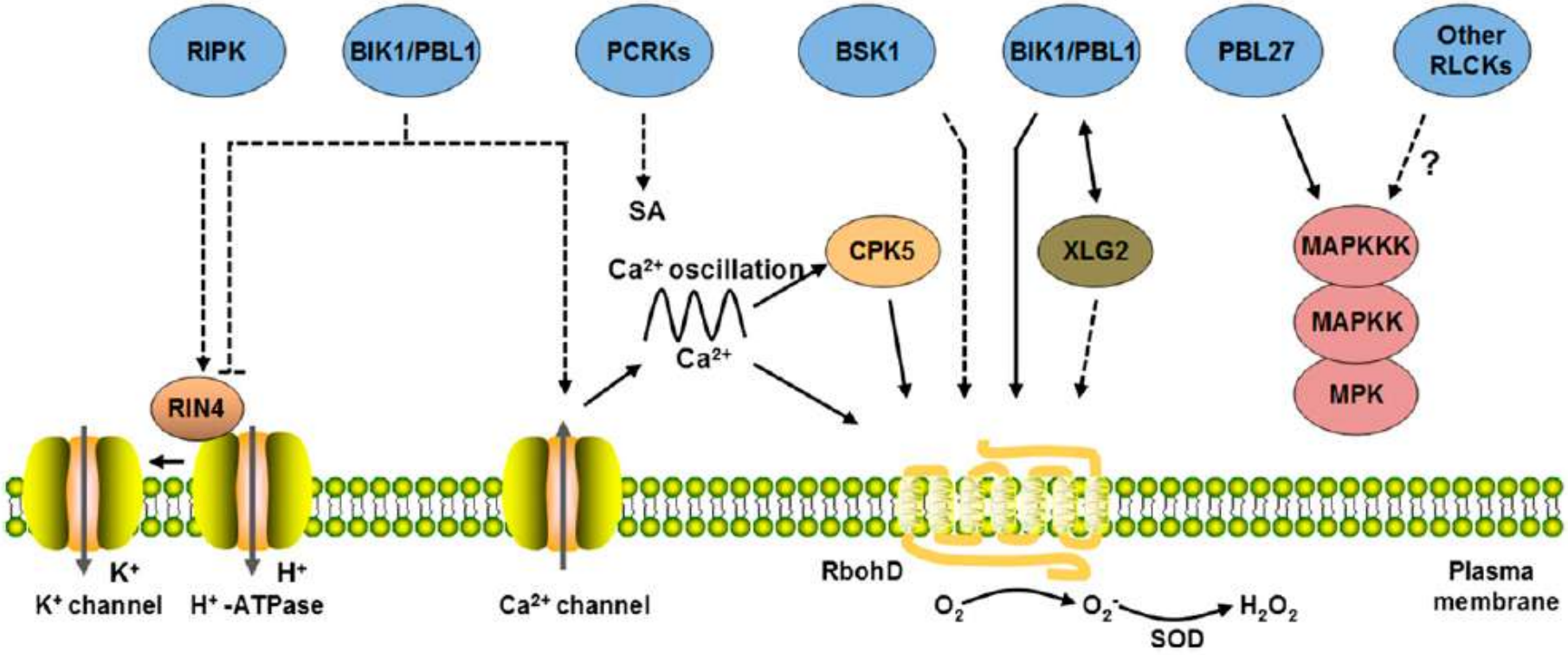
МАРКиназа

Фактор активации трансдукции WRKY

В клетке оперирует несколько модулей.



Ассоциация киназных модулей друг с другом с помощью поддерживающих (scaffold) белков обеспечивает очень быстрый и эффективный ответ клетки на получаемые сигналы. К примеру, соединение рецептора резушки FLS2 с белком бактериальных жгутиков флагелином (flg22) вызывает в течение 30 мин. транскрипционные изменения в активности 1100 генов. Это вызвано каскадом протеинкиназ и активизацией белка-анкирина – транскрипционного фактора WRKY, играющего роль сходную с NF-kB млекопитающих. А потеря киназной активности вследствие мутации в кодирующем FLS2 гене делает растение нечувствительным к флагеллину.



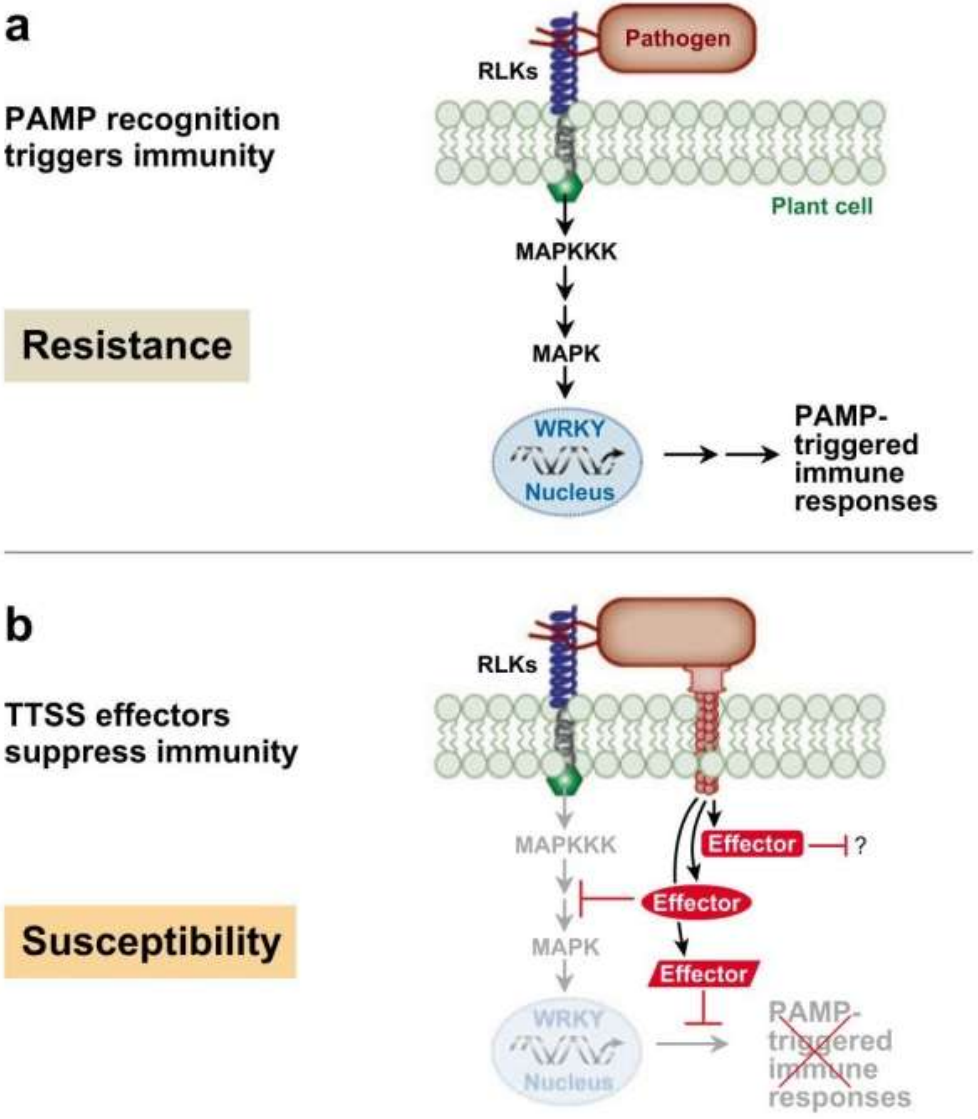
RLCKs Differentially Regulate Downstream Signaling.

Первой визуальной реакцией на обработку корней сои глюкановым элиситором было накопление Ca^{2+} в цитозоле. Приток его через кальциевые каналы в мембране приводит к деполимеризации мембраны и быстрому изменению концентрации свободных ионов на поверхности растения и в апопласте, вследствие чего изменяются в неблагоприятном направлении условия для атаки клеток паразитом. Избыток кальция связывается кальций зависимыми протеинкиназами (CDPK), - критическими сенсорами иммунного ответа. Активизация CDPR происходит под воздействием различных MAMPs

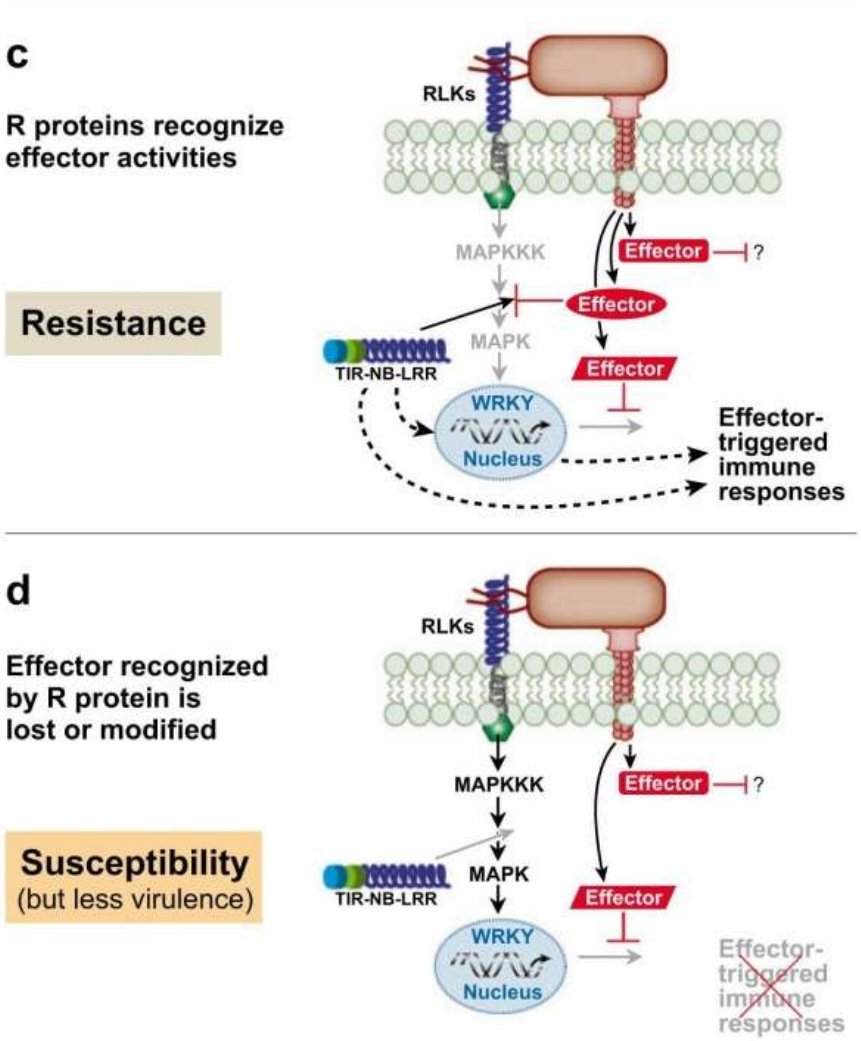
Другим важным белком, связывающим Ca^{2+} является *кальмодулин*, который участвует во многих регуляторных процессах. Так, Ca^{2+}-кальмодулин может активировать протеинкеиназы и фосфопротеинфосфатазы, а также фосфолипапзу С. Ненасыщенные жирные кислоты с помощью фосфолипаз освобождаются из фосфолипидов и далее окислятся липооксигеназами.

В конечном итоге образуются молекулы универсального активного сигнального соединения – *жасмоновой кислоты* (ЖАК), которая индуцирует экспрессию генов PDF1и PDF2 и индукцию иммунного ответа, в частности, синтез антимикробных белков дифензинов.

Влияние эффекторов микроорганизмов

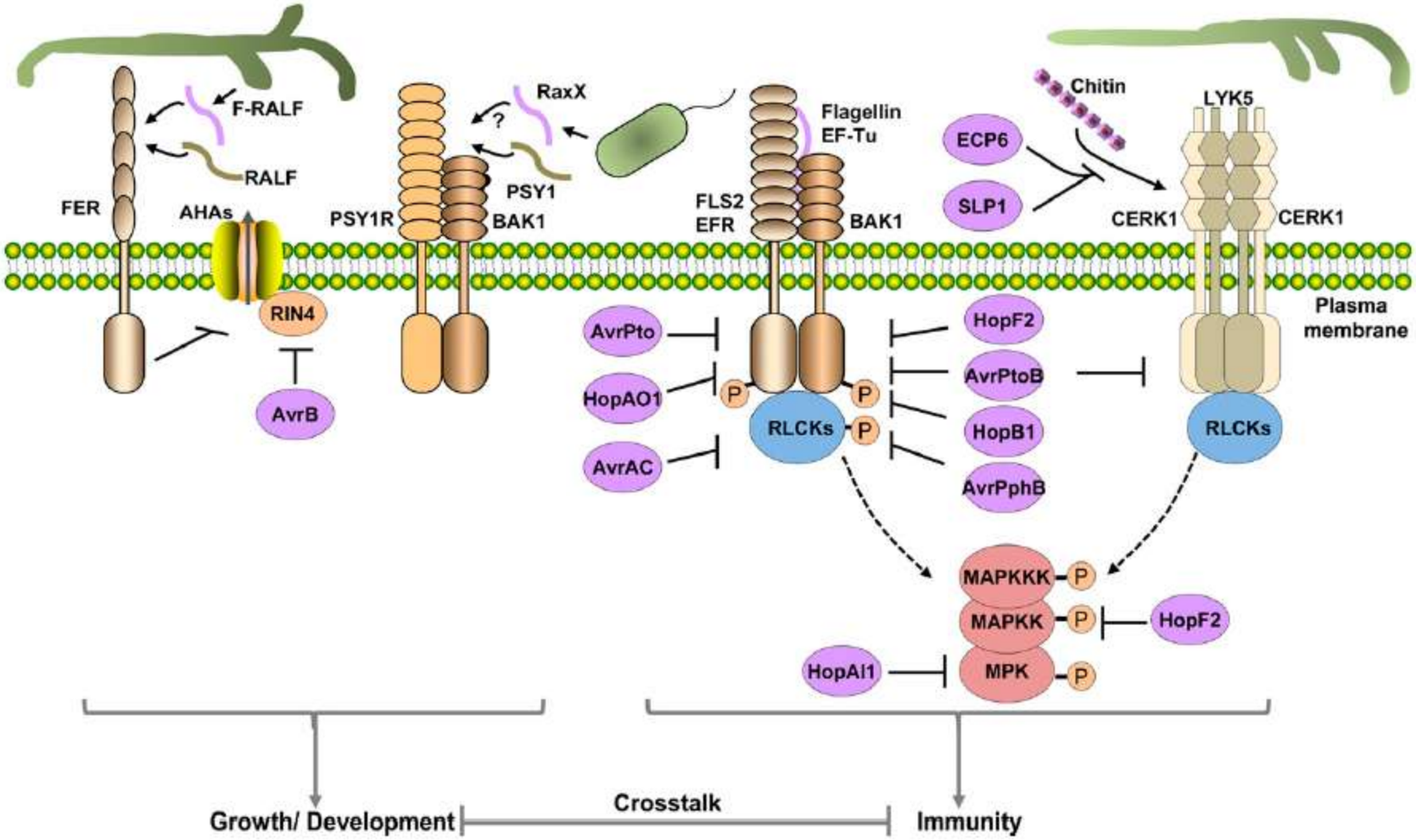


Влияние эффекторов микроорганизмов



www.annualreviews.or

Влияние эффекторов микроорганизмов



Рецептор Xa21 риса

Ген *Xa21* изолирован из дикого риса *Oryza longistaminata.* Его продукт узнает сульфатированный пептид $AxY^{s}22$, который секретируется многими видами ксантомонад и входит в состав липополисахаридной (LPS) капсулы, окружающей бактериальную клетку. Изоляты, не образующие пептид или не сульфатирующие его, слабо патогенны. Сульфатации проводит фермент сульфотрансфераза, кодируемая геном *raxST.* Штаммы, лишенные его, не узнаются XA21 и, в опытах в теплице – вирулентны.