



## **Лекция 9. Тема: “Мембранные и цитоплазматические иммунные рецепторы растений”**

Вопросы:

Рецепторы опознавания паттерна.

Рецепторы специфического иммунного ответа. PRRs растений, распознающие PAMPs грибов и вирусов.

PRRs растений, распознающие PAMPs бактерий

# Функции врожденного иммунитета

Растения не имеют защитных специализированных клеток, иммуноглобулинов и др., как животные организмы, однако у растений есть врожденный иммунитет, которым обладает каждая растительная клетка. При взаимодействии с фитопатогеном растительные клетки реализуют узнавание патогена с помощью внеклеточных паттерн-распознающих рецепторов.

Если патогеном нарушена целостность клетки, его узнавание происходит с помощью внутриклеточных белков устойчивости – цитоплазматических рецепторов к эффекторам патогенов. В этом случае в ответ на инфицирование запускается каскад реакций, которые приводят, как правило, к запрограммированной гибели зараженных клеток растения и формированию иммунного ответа соседних клеток.

Функции врожденного иммунитета:

- распознавание PAMP микробов;
- элиминация патогена (клеточные и гуморальные факторы)/
- фагоцитоз;
- активация приобретенного иммунитета.

# Типы иммунитета растений

Врожденный иммунитет растений делят на **специфический и неспецифический**.

При иммунном ответе растения используют несколько семейств как мембранных, так и цитоплазматических рецепторов, содержащих консервативные домены с лейцин-богатыми повторами (LRRs).

Отсутствие у растений адаптивного иммунитета и связанных с ним перестроек в генах иммунных рецепторов частично компенсируется механизмами "**специфического**" иммунитета для противодействия конкретным патогенам.

Все эти механизмы полностью закодированы в геноме.

На уровне передачи внутриклеточного сигнала и эффекторных механизмах, растения лишь частично сходны с системами врожденной защиты животных, которые устроены значительно сложнее.

# Рецепторы распознавания паттерна

Рецепторы опознавания паттерна или распознающие рецепторы - это белки, присутствующие на поверхности клеток иммунной системы и способные узнавать стандартные молекулярные структуры (паттерны), специфичные для больших групп патогенов. Синоним: рецепторы, опознающими патоген. Эти рецепторы и связанные с ними механизмы иммунной защиты являются эволюционно более древними, по сравнению с системой адаптивного иммунитета растений.

Сокращения:

- PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns) – консервативные молекулярные структуры, характерные для групп сходных микроорганизмов
- PRR-рецепторы (Pattern Recognition Receptors - паттернраспознающие рецепторы)

# Рецепторы опознавания паттерна

**Трансмембранные рецепторы PRRs** растений играют важную роль в первичном иммунном ответе, узнают **консервативные PAMPs** фитопатогенов: бактерий, вирусов, грибов и других организмов.

PRRs состоят из внеклеточного лейцин-богатого домена (**LRRs**),

за исключением хитинового рецептора (**CEBIP**) риса, который содержит лизин-богатый домен. Эти домены участвуют в связывании PAMPs.

У растений существует **два типа PRRs**:

1. Рецепторподобные киназы, имеющие внутриклеточный киназный домен.
2. Белки, не имеющие цитоплазматического домена - рецептор подобные белки (RLPs).

# Рецепторы иммунной системы

Трансмембранные рецепторы PRR растений формируют первичный иммунный ответ.

PRR распознают консервативные PAMPs бактерий, грибов и вирусов.

PRR состоит из внеклеточного домена LRR, который участвует в связывании с PAMPs.

**PRR:** белки, не имеющие цитоплазматического домена, или рецептор-подобные белки.

**RLPs:** рецептор-подобные киназы, имеющие внутриклеточные киназные домены.

У каждой группы микроорганизмов имеются свои PAMPs.

Рецепторы для вирусных PAMPs: NIK (желтая морщинистость томата).

Рецепторы для бактериальных PAMPs: XA21, устойчивость к *Xanthomonas oryzae*, FLS2, EFR.

Рецепторы для грибковых PAMPs: **LeEIX2** в ответ на гриб *Trichoderma viridae*.

Рецепторы специфического иммунного ответа:

Цитоплазматические рецепторы.

R-белки (состав):

- LRRs, где происходит связывание с PAMPs,

- нуклеотид - связывающий домен NB, где происходит связывание и гидролиз АТФ.

Это ведет за собой конформационные изменения в молекуле рецептора и вызывает активацию сигнального каскада.

# Неспецифический иммунитет

## Неспецифический иммунитет:

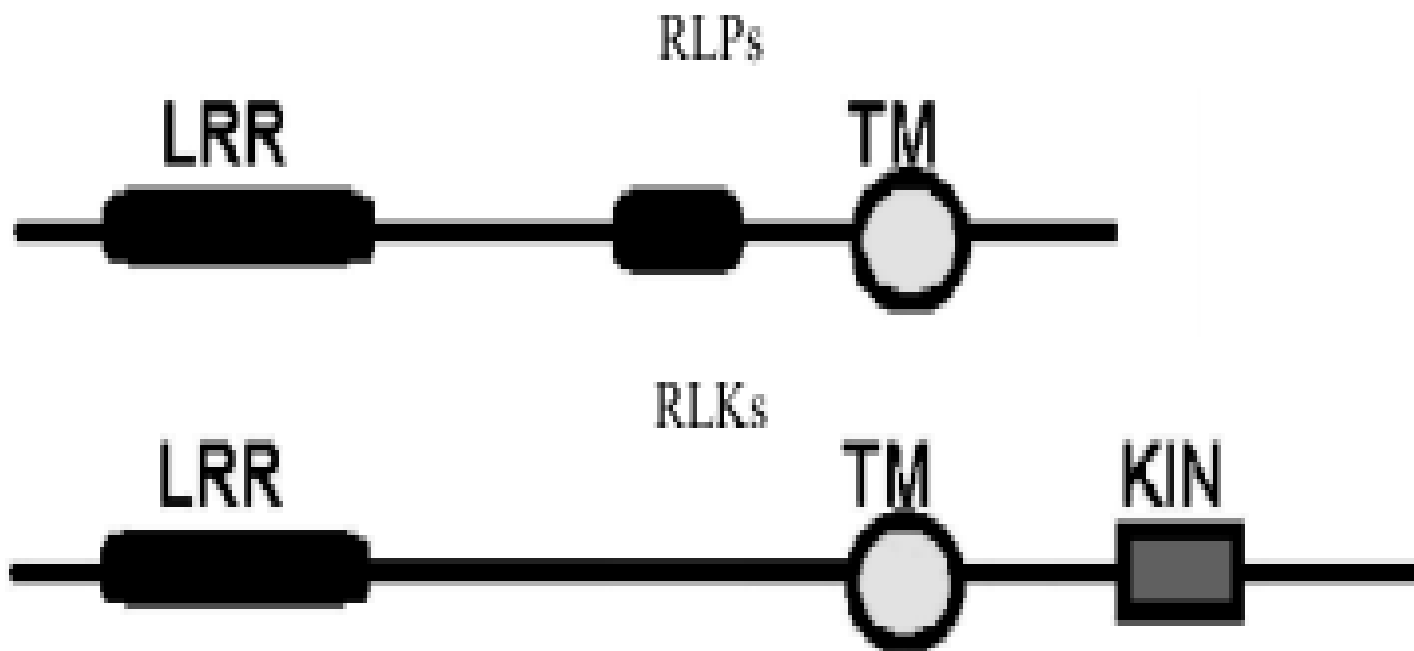
наличие паттерн-распознающих рецепторов (PRRs).

- PRR распознают молекулярные структуры (PAMPs), которые ассоциируются с микроорганизмами, например: липополисахариды, пептидогликаны, флагеллин.

Патогены обходят PRR, поэтому растения развили еще и **специфический иммунитет**, его определяют:

- цитоплазматические R-белки. R-белки воздействуют на специфические эффекторы определенных патогенов.

# Паттерн-распознающие рецепторы



LRR – лейцин-богатые повторы, TM - трансмембранный домен, KIN - киназный домен

Рис. 1. Иллюстрация паттерн-распознающих рецепторов растений



Для каждой группы фитопатогенов характерны свои PAMPs.

PRRs растений к основным классам патогенов:

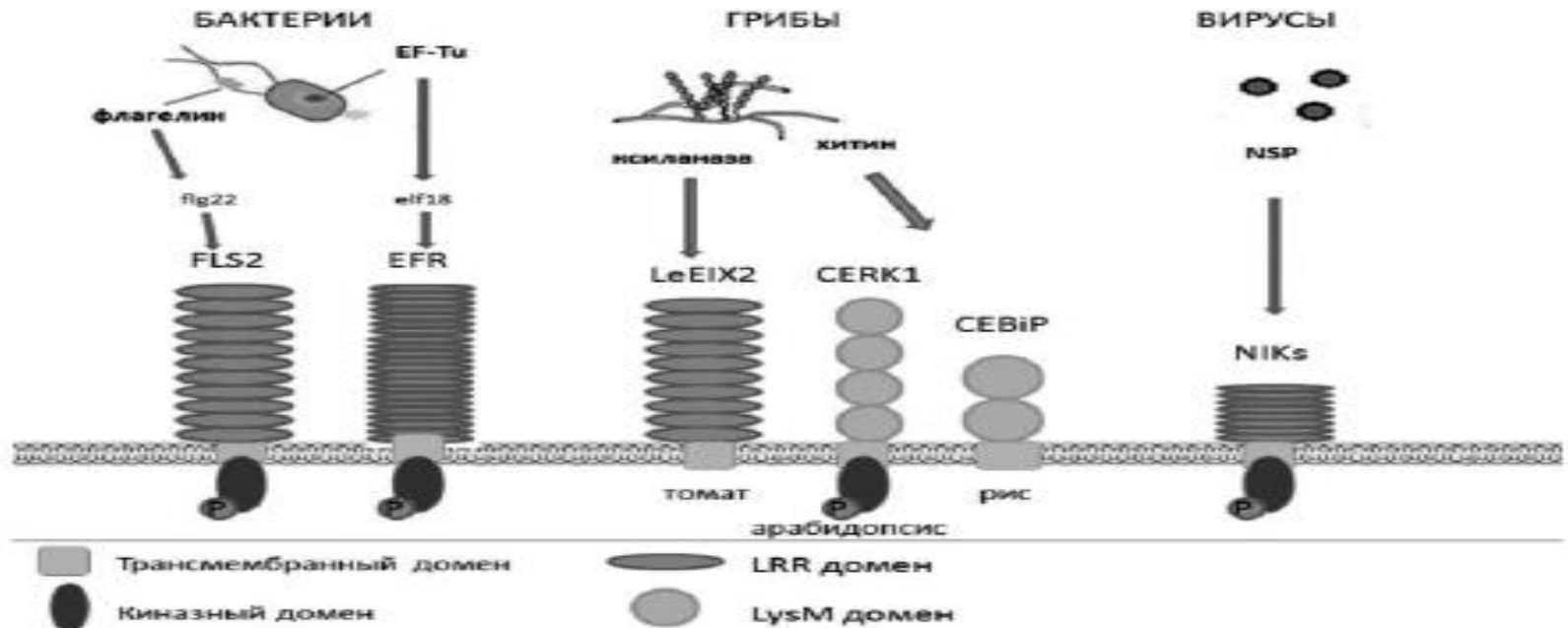


Рис. 2. PRRs растений в ответ на бактерии, грибы и вирусы  
(Cyril Zipfel, Pattern-recognition receptors in plant innate immunity, 2008, описание в тексте).

С помощью аффинной метки было показано, что элиситор хитина, белок CEBiP ответственен за связывание хитоолигосахаридов у риса. Выключение гена CEBiP с помощью РНК интерференции приводит к ингибированию образования реактивных форм кислорода и экспрессии генов, участвующих в иммунном ответе после проникновения хитинового элиситора.

# Рецепторы специфического иммунного ответа

Эволюция патогенов позволяет им приобретать способность обхода защиты РТІ:

- становиться либо нераспознаваемыми рецепторами путем мутаций в генах, кодирующих эпитопы, или элиминации распознаваемых участков, либо подавлять активность распознаваемых участков.

В процессе ко-эволюции с патогенами растения приобрели способность к синтезу специфических белков устойчивости к определенным веществам проникших в клетки фитопатогенов. Именно в этом проявляется специфический иммунный ответ растений.

**R-белки** состоят из 2 основных компонентов:

**LRRs** и нуклеотид-связывающего домена (**NB**) и в этом схожи с таким животным белкам.

**LRRs-NB** цитоплазматические рецепторы, могут напрямую взаимодействовать с такими веществами или косвенно через белки, на которые воздействуют на эффекторы .

R-белки подразделяются на **CC-NB-LRRs** (содержат на N-конце домен типа «суперспираль») и на **TIR-NB-LRRs** (содержат на N-конце **TIR** домен).

Распространенность как у животных, так и растений белковых структур, в состав которых входят LRR и NB-домены, связано природой такой структуры для осуществления двух сопряженных процессов: **узнавания лиганда** и **дальнейшей передачи сигнала**.

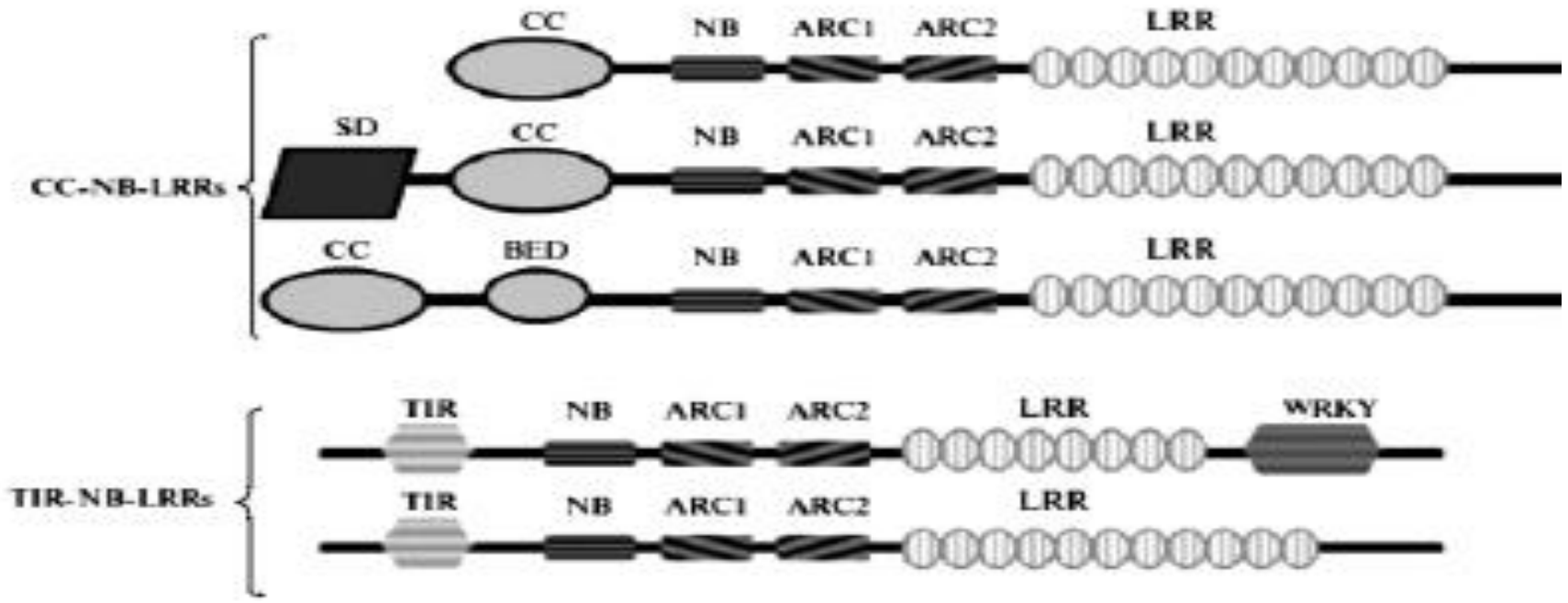


Рис. 3. Схематическое изображение R-белков растений (О.А. Вахрушева, Система врожденного иммунитета у растений, 2011)

# PRRs растений, распознающие PAMPs грибов и вирусов

Кроме наиболее изученных **PRR** (как FLS2 и EFR в ответ на бактерии) выявлены например, мембранный **LeEIX2** в ответ на гриб *Trihoderma viride*, который в свою очередь передает сигнал к этилен индуцируемой ксиланазе (**EIX**). EIX индуцирует выход электролитов, экспрессию патоген-связывающих белков, а также гиперчувствительный ответ у ряда растений (томат, табак). **EIX** вызывает вхождение мембранного **LeEIX2 (RLP)** в клетку путем эндоцитоза. Активация EIX является необязательным условием для включения системы защиты.

# PRRs растений, распознающие PAMPs грибов и вирусов

Рецептор LeEIX2 принадлежит к группе RLPs, состоит из внеклеточных LRR повторов и включает в себя трансмембранный домен и короткий цитоплазматический хвост с неизвестной функцией. Показано, что LeEIX1 ослабляет EIX ответ через LeEIX2 рецептор.

Идентификация рецепторов, вовлеченных в восприятие хитоолигосахаридов (хитина) грибов. Хитин, полимер N-ацетил-D-гликозамина был найден в клеточной стенке грибов, экзоскелете насекомых, покровных тканях ракообразных, но не у растений. С помощью аффинной метки было показано, что элиситор хитина, белок CEViP (рис. 2) ответственен за связывание хитоолигосахаридов у риса. Выключение гена CEViP с помощью РНК интерференции приводит к ингибированию образования реактивных форм кислорода и экспрессии генов, участвующих в иммунном ответе после проникновения хитинового элисителя.

# PRRs растений, распознающие PAMPs бактерий

Рецептор XA21 (*Oryza sativa*) является первым обнаруженным PRR, который участвует в устойчивости против *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, исследования показали, что лигандом для рецептора является сульфатированный пептид белка Ax21, который представлен во всех видах *Xanthomonas*.

Механизм взаимодействия PAMP-PRR впервые был показан на примере флагеллина *Pseudomonas syringae*, распознаваемого рецептором FLS2 арабидопсиса (*A.thaliana*). Эпитопом флагеллина является N-концевой участок, содержащий 22 аминокислоты. Путем мутаций генов, кодирующих PRRs, была выявлена значимость первичного ответа. Мутация в гене EFR, кодирующего рецептор распознавания EF-TU бактерий, приводила к повышенной трансформации арабидопсиса агробактериями по сравнению с диким типом.

# PRRs растений, распознающие PAMPs бактерий

Мутации FLS2 у томата снизили чувствительность к PAMPs и увеличили проникновение *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

Флагеллин из разных организмов может влиять на один и тот же вид растений с различной эффективностью: флагеллин из *P.syringae* проявляет наибольшую активность по сравнению с таковым из *Agrobacterium tumefaciens*.

RLKs растений сходны с TLRs млекопитающих по наличию внеклеточного лейцин-богатого домена, участвующего в распознавании PAMPs, и по механизму проведения внутриклеточного сигнала – за счет активации серин/треониновых киназ. В отличие от RLKs, TLRs млекопитающих не обладают серин/треониновой киназной активностью и передают сигналы через адаптерные белки, активирующие киназы, действующие на более поздних стадиях сигнального каскада. Было обнаружено, что в геноме *Arabidopsis* имеется около 233 генов LLR- RLKs и 110 генов LLR-RLPs, которые экспрессируются на различных этапах развития растений и многие из них не вовлечены в развитие иммунного ответа. Рецепторы, не вовлеченные в иммунный ответ, играют ключевую роль в онтогенезе растений, симбиозе, самонеопыляемости.