

Галибина Наталия Алексеевна

Карельский НЦ РАН

Функционирование стволовых клеток камбия и программы дифференциации их производных на разных этапах онтогенеза древесного растения (анатомические, биохимические и молекулярные аспекты)

В докладе обобщены результаты исследования регуляции камбиальной активности и дифференциации производных камбиальных инициалей у древесных растений (анатомические особенности, биохимические и молекулярные механизмы), полученные коллективом за последние десять лет. Несмотря на впечатляющие успехи молекулярной и клеточной биологии, появление технологии секвенирования РНК единичных клеток, на сегодняшний день взаимодействие сигнальных путей, координирующих морфогенез тканей ствола, до конца не изучено. При этом, данные о механизмах регуляции ксило- и флоэмогенеза, особенно у деревьев в спелых насаждениях в натуральных условиях, единичны. Сложность регуляции активности камбия и переходов между этапами камбиального роста требует особых подходов к их изучению. Особенностью наших исследований является изучение ксило- и флоэмогенеза у древесных растений в ходе нормального роста и развития проводящих тканей (деревья березы повислой *Betula pendula* var *pendula*) и отклонений от типичного для вида сценария (на примере карельской березы *B. pendula* var. *carelica* с узорчатой древесиной ствола). Показано, что изменение сценариев дифференциации производных камбиальных инициалей у карельской березы связано с активацией транскрипции генов. В докладе некоторым метаболическим путям будет уделено особое внимание.

Выявлены профили экспрессии сигнального модуля, состоящего из богатой лейцином рецепторподобной киназы (LRR-RLK) – PXY (PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM), известной также как TDR, и лигандов из семейства CLE-пептидов (CLAVATA3 (CLV3)/EMBRYO SURROUNDING REGION RELATED) – CLE41, CLE42 и CLE44. Рассмотрена их пространственная и временная специфичность, а также активность их непосредственных мишеней, в том числе WOX4, WOX13 и CAIL (CAMBIUM AINTEGUMENTA-LIKE), которые относят к молекулярным маркерам стволовых клеток камбия. Предложены схемы взаимодействия пептидного и ауксинового сигналингов в регуляции путей дифференциации камбиальных инициалей.

Рассмотрены основные молекулярные игроки программируемой клеточной смерти при формировании высокоспециализированных клеток проводящих тканей ствола: (1) гены, гомологичные *ATG8 Arabidopsis*, запускающие процессы аутофагии при формировании проводящих элементов; (2) ген, кодирующий убиквитиновый рецептор RPN10, регулирующий селективную аутофагию при формировании ситовидных элементов флоэмы; (3) гены *SEO* (sieve occlusion element), кодирующие Р-белки флоэмы. Изучены профили их экспрессии на разной стадии формирования тканей ствола. Показано, что при переходе к узорчатому строению у карельской березы на фоне увеличения доли паренхимных клеток, сохраняющих жизнеспособность, в тканях ствола наблюдается изменение профилей экспрессии генов, участвующих в программируемой клеточной гибели. Выявлено значимое снижение числа транскриптов гена *RPN10*, а также генов, кодирующих ферменты автолиза клеточных органелл (протеазы – АРА, ХСР, метакаспазы – МС) и ферментов, отвечающих за деградацию ядра (нуклеазы).

Рассмотрена роль сахарозного и АФК сигналингов в формировании узорчатой древесины карельской березы. В местах формирования аномалий у карельской березы снижается проводимость флоэмы. При этом нарушается градиент сахарозы в радиальном ряду: проводящая флоэма – камбиальная зона – дифференцирующаяся ксилема. В утилизации сахарозы возрастает роль системы ближнего транспорта: увеличивается экспрессия генов, кодирующих переносчики сахарозы (гены семейства *SUT*, ген *SWEET11*) и гексоз (*SWEET1,3,16*). В результате (1) изменяются пути включения сахарозы в метаболические процессы; (2) увеличивается активность пероксидазы (ПОД); (3) происходит сдвиг баланса супероксидного радикала и пероксида водорода, находящихся под контролем транскрипционного фактора *UPBEAT1*; (4) возрастает экспрессия *UPBEAT1* и генов, кодирующих фенилаланинаммиаклиазу (*PAL*). Как следствие, в зоне формирования аномалий нарушается формирование сосудов ксилемы, дифференцирующиеся камбиальные производные сохраняют протопласт и превращаются в паренхимные клетки, что приводит к изменению качества формирующейся древесины.