

УДК 577.21: 632.3.01

Е. А. НИКОЛАЙЧИК, Е. В. КУЛИК, О. А. БАДАЛЯН, Л. Н. ВАЛЕНТОВИЧ,
С. В. КУЗЬМИЧ, А. Н. ЕВТУШЕНКОВ

**РОЛЬ РЕЦЕПТОРПОДОБНОЙ ТРАНСМЕМБРАННОЙ КИНАЗЫ РАСТЕНИЙ
СЕМЕЙСТВА ПАСЛЕНОВЫХ ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ
С ФИТОПАТОГЕНОМ *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM***

(Представлено членом-корреспондентом А. В. Кильчевским)

Белорусский государственный университет, Минск

Поступило 18.01.2012

Введение. Надежное функционирование механизмов защиты растений от патогенов зависит от сигнальных систем растения, которые детектируют клетки патогенов при низкой плотности их популяций, т. е. в начале инфекции. С другой стороны, для преодоления иммунитета растений-хозяев вирулентные патогены способны нарушать детекцию патогена растением.

Во многих случаях распознавание патогена и последующая активация иммунитета растений обеспечивается мембранными рецепторными комплексами, состоящими из специализированной рецепторной киназы (например, рецептора флагеллина FLS2), специфически распознающей патогенассоциированный молекулярный образ (PAMP), и корецептора из SERK-семейства (например, ВАК1) [1].

Такой PAMP-индуцируемый иммунитет, однако, не обеспечивает абсолютной защиты от патогенов, поскольку последние имеют разнообразные механизмы преодоления врожденного иммунитета растений-хозяев. Универсальным подходом бактериальных патогенов к решению этой задачи является доставка в клетку растения при помощи системы секреции III типа белков-эффекторов, способных взаимодействовать с компонентами сигнальных цепей растений и нарушать их нормальное функционирование. В большинстве изученных случаев мишенью эффектора является мембранная рецепторная киназа (RLK). Например, эффекторный белок AvrPto бактерий *Pseudomonas syringae* взаимодействует с рецептором флагеллина FLS2 и универсальным корецептором ВАК1, блокируя киназную активность рецепторного комплекса; AvrPtoB, другой эффектор *P. syringae*, является убиквитинлигазой, направляющей на деградацию несколько RLK, включая FLS2, но одновременно способен и непосредственно ингибировать некоторые RLK; еще один эффектор *P. syringae*, AvrPphB, является цистеиновой протеазой, ответственной за деградацию как минимум трех связанных с рецепторными комплексами киназ (BIK1, PBL1 и PBL2) [2].

Молекулярные механизмы распознавания патогена растением и преодоления патогеном растительного иммунитета лучше всего изучены для биотрофных патогенов, особенно в системе *P. syringae* – *Arabidopsis thaliana*, чему не в последнюю очередь способствует большое количество известных эффекторных белков, доставляемых *P. syringae* в клетки растений (до 30 для одного штамма) [2].

Пектолитические фитопатогенные бактерии, типичными представителями которых являются виды рода *Pectobacterium* (ранее включавшиеся в род *Erwinia*), – это некротрофные патогены, способные в ходе инфекции быстро разрушать ткани растений за счет массивной продукции и секреции гидролитических ферментов (пектатлиаз, полигалактуроназ и целлюлаз) [3]. Для защиты от *Pectobacterium* растения используют как универсальные механизмы врожденного иммунитета, так и специфические способы защиты (например, детекцию олигогалактуронатов – продуктов расщепления пектинов клеточной стенки пектолитическими ферментами патогена).

Обычно *Pectobacterium* активируют продукцию и секрецию своих экзоферментов только при высокой плотности бактериальной популяции, и после начала активного синтеза и секреции внеклеточных ферментов патогеном любая защита растения оказывается неэффективной.

Наши исследования показывают, что важнейшим фактором вирулентности при заражении растения-хозяина (картофеля) бактериями *Pectobacterium carotovorum* (*Pca*), а также для индукции реакции сверхчувствительности у других растений, является секреторная система III типа (ССТТ) [4]. С использованием аденилатциклазного репортера нам удалось зарегистрировать ССТТ-зависимый транспорт в клетки растений как минимум двух белков, DspE [5] и HrpJ [6]. Инактивация генов, кодирующих эти белки (а также компоненты секреторной системы III типа), существенно снижает вирулентность патогена в растении-хозяине и препятствует индукции реакции сверхчувствительности у растений табака [6]. Оценка уровней экспрессии *PR*-генов в интактных и зараженных бактериями *Pca* растениях картофеля продемонстрировала сильную индукцию двух *PR*-генов (*PR-3* и *PR-5*) в зоне инфекции, но значительно более низкий уровень экспрессии этих генов в непораженных частях растений. При заражении растений мутантами бактерий *Pca* по гену *dspE* или по генам ССТТ наблюдался повсеместно высокий уровень экспрессии *PR*-генов [7]. Эти данные свидетельствуют о том, что белок DspE может блокировать развитие системных защитных реакций в организме растения-хозяина и таким образом, по крайней мере формально, действует аналогично изученным эффекторам *P. syringae*.

Информация о взаимодействии белка DspE *Pca* с компонентами сигнальных цепей растений отсутствует, однако опубликована одна работа о присутствии в клетках яблони *Malus × domestica* рецепторных киназ, с которыми взаимодействует родственный белок DspA/E *Erwinia amylovora* [8]. Эта информация позволила нам осуществить направленный поиск рецепторных киназ растений семейства пасленовых, которые могли бы участвовать в распознавании бактерий *Pca* и являться мишенью для белка DspE этого патогена.

Материалы и методы исследования. Растения *Nicotiana benthamiana* и *Solanum lycopersicum* (сорт Доходный) выращивали при 20 °С и 16-часовом световом дне. Штаммы бактерий *Pca* JN42 (дикого типа) и VKE (*dspE*) [5], а также *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 культивировали на среде LB при 28 °С. Клетки штаммов *Saccharomyces cerevisiae* SKY48 и SKY473 культивировали на среде YPD при 28 °С. Для выявления белок-белковых взаимодействий дрожжевые трансформанты культивировали на селективной среде с галактозой и раффинозой без лейцина [9] при 28 °С.

Для амплификации фрагментов генов *slRLK5* и *ntRLK5* использованы праймеры CCGAGCTCAATTGTGTAGAAAGAGGTCTGGTAACAAC и CGCGTCGACCCACCTCAATCAGATTTCATTGACA, а для оценки уровня экспрессии *nbRLK5* методом кПЦР – праймеры TGGGATTGTTGTTGGATCTGTAGTG и ATGCACCCACATCAACAGACCT. Методы выделения РНК, синтеза кДНК и кПЦР описаны в [7].

Оценка уровня экспрессии *nbRLK5* осуществлялась относительно двух референсных генов, *TBP* (праймеры GGAGCCAAAAGTGAACAACAG и CGTAACCTTGAGAAAGCACCCGT) и *CAC* (праймеры CCTCCGTTGTGATGTAACCTGG и ATTGGTGGAAAGTAACATCATCG) с использованием программы REST 2009 2.0.13 (Quiagen).

Проверка белок-белковых взаимодействий осуществлялась в LexA-зависимой дрожжевой двухгибридной системе по стандартной методике [9]. Амплифицированные фрагменты *slRLK5* и *ntRLK5* были клонированы в векторе pJG4–5 по сайтам *Eco* RI и *Xho* I. Фрагмент гена *dspE* был амплифицирован из плазмиды pVL40FM [10] с помощью праймеров AGCGGATCCCAATTTACACAGGAG и GTATCACCATGGAAATCTTCTCTCACT и клонирован в векторе pJK202 [9] по сайтам *Bam* HI и *Nco* I. Полученная таким образом плаزمида pJK::*dspE* кодирует белок DspE_{1–1069}–FLAG, способный комплементировать мутацию *dspE* в клетках *Pca* [10].

В качестве позитивного контроля использовали ранее показанное нами взаимодействие DspE со своим секреторным шапероном DspF [10], для чего ген последнего был амплифицирован с праймерами CGGTGAATCCAGGAGAACAGGATG и TGCCGTCGACCAATCACGTTAGGC, полученный ПЦР-фрагмент обработан *Eco* RI и *Sal* I и лигирован с плазмидой pJG4–5, обработанной *Eco* RI и *Xho* I.

Идентичность клонированных последовательностей геномным была подтверждена секвенированием.

Клетки штамма *Saccharomyces cerevisiae* SKY473 (*MATa ura3 trp1 his3 2LexAop-leu2*) трансформировались плазмидой pJG4-5::*slRLK5*, pJG4-5::*ntRLK5* или pJG4-5::*dspF*. Дрожжевые трансформанты противоположного типа спаривания, SKY48 (*MATa ura3 trp1 his3 3LexAop-leu2*), содержали плазмиду pJK::*dspE*. Проверка взаимодействия исследуемых белков проводилась в диплоидных дрожжевых клетках, полученных в результате скрещивания штаммов SKY473 и SKY48, содержащих указанные плазмиды.

Для вирус-индуцированного сайленсинга *Bam* HI- *Eco* RV фрагмент гена *ntRLK5* размером 741 н. п. был клонирован в векторе pTRV2 [11]. Сайленсинг осуществлялся по описанной в [11] методике. Для проверки эффективности сайленсинга использовались конструкции pTRV2::*slPDS* и pTRV2::*nbSGT1*. pTRV2::*GFP* использована в качестве негативного контроля во всех экспериментах по сайленсингу.

Поиск гомологов DIPM белков осуществляли при помощи программ из пакета BLAST в базах данных, поддерживаемых Solgenomics.net и potatogenomics.plantbiology.msu.edu, а также NCBI (GenBank).

Результаты и их обсуждение. Целью настоящего исследования являлся поиск у растений семейства пасленовых рецепторных киназ, с которыми мог бы взаимодействовать эффекторный белок DspE бактерий *Pca* с последующим анализом роли таких киназ при взаимодействии с данным патогеном. Геномы растений содержат обычно несколько сотен генов серин-треониновых рецепторных киназ с LRR-доменом (LRR-RLK). Функции большей части этих рецепторов неизвестны, однако предполагается, что значительная часть LRR-RLK предназначена для детекции различных патогенов. Поскольку для эффектора DspA/E патогена яблони *Erwinia amylovora* было показано взаимодействие с киназными доменами LRR-RLK рецепторов *Malus × domestica*, мы произвели поиск наиболее близких последовательностей в геномах растений семейства пасленовых. Основным интересом для нас представляли растения *Nicotiana benthamiana* и *Solanum lycopersicum*, так как для них возможна быстрая инактивация исследуемых генов методом вирус-индуцированного сайленсинга, а также растения *Solanum tuberosum* (естественный хозяин для данного штамма *Pca*), для которых, как и для *S. lycopersicum*, доступна полная геномная последовательность. Идеальным кандидатом для целей настоящего исследования был бы ген, сходный с геном одной из описанных в работе [8] LRR-RLK яблони, ортологи которого присутствовали бы у всех трех указанных видов пасленовых. К сожалению, информация о геноме *Nicotiana benthamiana* весьма ограничена, из-за чего нам не удалось найти среди доступных нуклеотидных последовательностей этого вида ни одной, белковый продукт которой имел бы достаточное сходство с киназными доменами DIPM белков яблони. В несколько лучше изученном геноме *N. tabacum* присутствовали фрагменты генов со значительным (порядка 80 % на уровне аминокислотной последовательности) сходством с DIPM3 и DIPM4, однако эти последовательности соответствовали только части киназного домена. В геноме томата присутствовали последовательности, кодирующие белки с уровнем гомологии (содержанием идентичных аминокислотных остатков) в пределах киназного домена порядка 53–78 % по отношению ко всем четырем описанным в [8] DIPM-белкам яблони. Из этих генов для дальнейшего анализа был выбран локус Solyc03g118510.2, расположенный на третьей хромосоме томата. Несмотря на то что белковый продукт этого локуса имел не самое высокое сходство с DIPM-белками (56 и 51 % идентичности с DIPM2 и DIPM4), его преимуществом являлось присутствие гомологов (с идентичностью около 90 %) в геномах картофеля и табака. Кроме того, масштабное секвенирование транскриптома картофеля [12] показало интенсивную экспрессию гомолога этого гена в клубнях и стеблях растения-хозяина, т. е. в органах, поражаемых данным патогеном.

Локус Solyc03g118510.2 (далее именуемый *slRLK5*) имеет размер 2855 н. п., содержит один интрон размером 449 н. п. и кодирует серин-треониновую RLK (669 аминокислотных остатков) с пятью LRR-доменами, т. е. продукт этой рамки считывания принадлежит к тому же классу рецептороподобных киназ, что и белки DIPM1–4. Гомологичные гены растений табака далее именуется *ntRLK5* (из *N. tabacum*) и *nbRLK5* (из *N. benthamiana*).

Взаимодействие белка DspE с рецепторными киназами было проверено с помощью LexA-зависимой дрожжевой двухгибридной системы [9]. В этой системе для экспрессии в клетках дрожжей химерного белка-«приманки» с ДНК-связывающим доменом белка LexA фрагмент гена *dspE* был клонирован в векторе pJK202, а для экспрессии химерного белка-«добычи» с активаторным доменом B42 фрагменты генов *RLK5*, соответствующие киназным доменам, были клонированы в векторе pJG4-5. Введение одиночных плазмид с «добычей», pJG4-5::*slRLK5* или pJG4-5::*ntRLK5* в клетки SKY473, а также вектора-«приманки» pJK202::*dspE* в клетки SKY48 не позволяло им расти на среде без лейцина. Однако прототрофность восстановилась у диплоидных клеток дрожжей, содержащих совместно с pJK202::*dspE* одну из плазмид с «добычей», pJG4-5::*slRLK5* или pJG4-5::*ntRLK5* (рис. 1). Эти данные свидетельствуют о непосредственном взаимодействии бактериального эффекторного белка DspE с киназными доменами трансмембранных рецепторов *slRLK5* и *ntRLK5*.

Проверка возможного участия взаимодействующей с DspE рецепторподобной киназы растения в детекции бактерий *Pca* была осуществлена с помощью сайленсинга гена *RLK5*. Вирусиндуцированный сайленсинг позволяет добиться быстрой инактивации генов растений, причем в случае присутствия в геноме нескольких высокоомологичных генов сайленсинг инактивирует все семейство. В ходе пилотных экспериментов мы проверили пригодность векторной системы на основе вируса TRV [11] для сайленсинга генов у растений четырех видов из семейства пасленовых. Эффективный сайленсинг гена фитоиндесатуразы (*PDS*), фенотипически проявлявшийся в виде побеления листьев из-за разрушения хлорофилла, наблюдался у растений *N. benthamiana*. Эффективность сайленсинга у *S. lycopersicum* существенно варьировала от растения к растению и в общем была заметно ниже таковой у *N. benthamiana*. Нам не удалось зарегистрировать симптомы сайленсинга у растений *N. tabacum* и *S. tuberosum*. Поэтому эффект инактивации *RLK5* был исследован у растений *N. benthamiana*. Мы также проверили возможность сайленсинга генов при неполной гомологии векторной конструкции и хромосомной копии гена. В этих экспериментах выявлено, что использование для сайленсинга гена *N. benthamiana* фрагмента ДНК *N. tabacum* столь же эффективно, как и фрагмента ДНК *N. benthamiana*, а с фрагментом гена *S. lycopersicum* сайленсинг наблюдался достаточно интенсивный, но неполный. Таким образом, использование для сайленсинга генов *N. benthamiana* гомологичных последовательностей *N. tabacum* является возможным и достаточно эффективным.

Инфильтрация интактных растений *N. benthamiana* суспензиями клеток *Pca* приводила к развитию реакции сверхчувствительности в течение 24 ч в пределах инфильтрованной зоны, однако, в отличие от растений *N. tabacum*, первичная защитная реакция растения в большинстве случаев не могла предотвратить распространение патогена, и через 48 ч после заражения наблюдалась мацерация тканей листа за пределами зоны инфильтрации; постепенно мацерация захватывала весь лист. Таким образом, растения *N. benthamiana* являются чувствительными к заражению бактериями *Pca* и могут быть использованы в качестве экспериментального объекта для моделирования по крайней мере некоторых аспектов взаимодействия бактерий *Pca* с растениями-хозяевами.

Участие *RLK5* растений *Nicotiana benthamiana* в детекции контакта с бактериями *Pca* было проверено через 40 дней после их инфекции одной из трех конструкций для сайленсинга: TRV::*GFP* (контроль), TRV::*RLK5* или TRV::*SGT1*. Использование в качестве контрольных растений, инфицированных TRV со вставкой ДНК (фрагмента гена *GFP*), не имеющей гомологии с геномом растения, было необходимо из-за незначительных отличий едва заметных симптомов



Рис. 1. DspE способен взаимодействовать с киназными доменами *slRLK5* и *ntRLK5* в клетках *S. cerevisiae*. На среду без лейцина высеяны клетки *S. cerevisiae*, содержащие следующие плазмиды: pJG4-5::*ntRLK5* (1), pJG4-5::*ntRLK5*+pJK202::*dspE* (2), pJG4-5::*slRLK5*+pJK202::*dspE* (3), pJG4-5::*slRLK5* (4), pJK202::*dspE* (5), pJG4-5::*dspE*+pJK202::*dspE* (6)

инфекции TRV-конструкций со вставками и без них [13]. Реакция контрольных растений на контакт с бактериями не отличалась от реакции интактных растений: инфильтрация листьев суспензиями бактерий дикого типа вызывала через 24 ч реакцию сверхчувствительности (рис. 2, а) с последующей мацерацией тканей листа через 48 ч, а при использовании бактерий *Pca* с инактивированным геном *dspE* ни симптомов сверхчувствительности, ни мацерации листьев растений не наблюдалось (рис. 2, б).

SGT1, регулятор убиквитинлигазного комплекса SCF, участвует в обеспечении как базового, так и эффектор-индуцируемого иммунитета. Показано, что у многих растений, в том числе и у *N. benthamiana*, этот белок необходим для индукции программируемой клеточной смерти при контакте с различными патогенами, в том числе с *Pca* [14]. Как и ожидалось, в наших экспериментах при сайленсинге гена *SGT1* у *N. benthamiana* реакция сверхчувствительности не развивалась при контакте с бактериями *Pca* как дикого типа (рис. 2, в), так и мутантными по гену *dspE* (рис. 2, е).

В отличие от *SGT1*, сайленсинг гена *RLK5* у растений *N. benthamiana* не оказал заметного эффекта на их морфологию в течение 60 дней после индукции ВИСГ, тогда как контрольные растения проявляли симптомы сайленсинга уже через 10 дней в случае гена *PDS* (побеление листьев) или 15 дней в случае гена *SGT1* (характерная деформация листьев и стебля). Поскольку сайленсинг *RLK5* не оказал заметного влияния на фенотип растений, уровни экспрессии *RLK5* были проверены путем кПЦР. Такая проверка показала существенно сниженную экспрессию *RLK5*: в среднем на уровне 17 % от контроля с вариацией в пределах 10–27 %. Сайленсинг гена *RLK5* у растений *N. benthamiana* никак не повлиял на их реакцию на контакт с *dspE*-мутантом *Pca* (рис. 2, з), однако при использовании для заражения клеток штамма *Pca* дикого типа наблюдалось четкое отличие от контрольных растений: реакция сверхчувствительности с последующей мацерацией тканей листа у растений с сайленсингом *RLK5* не развивались (рис. 2, в). Таким образом, белок *RLK5* *Nicotiana benthamiana* необходим для проявления каких бы то ни было фенотипических признаков реакции на бактерии *Pca*, как сверхчувствительности, так и мацерации тканей листа (т. е. заболевания), причем оба видимых симптома зависят от присутствия в клетках *Pca* функционального гена *dspE*.

Эффекторный белок DspE бактерий *Pca* взаимодействует в клетках растений с цитоплазматическим киназным доменом мембранной рецепторподобной киназы. Такое взаимодействие приводит к индукции реакции сверхчувствительности, которая у устойчивых растений (*Nicotiana tabacum*) предотвращает дальнейшее распространение патогена. Очевидно, однако, что у растений *N. benthamiana* интенсивность реакции сверхчувствительности является недостаточной для подавления патогена. В таком случае некротрофный патоген, наоборот, способен извле-

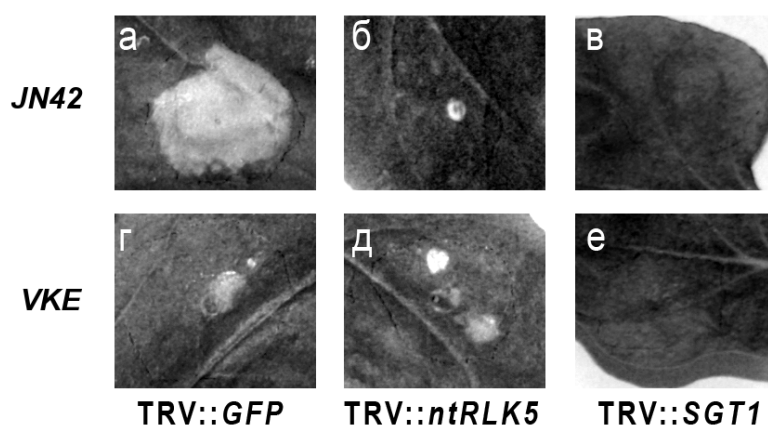


Рис. 2. Вирус-индуцированный сайленсинг *RLK5* блокирует развитие реакции сверхчувствительности *N. benthamiana*, индуцируемой *P. carotovorum*. Для индукции сайленсинга растения инфицированы *A. tumefaciens* с плазмидами TRV::GFP (а, з), TRV::RLK5 (б, д) или TRV::SGT1 (в, е). Через 40 дней верхние полностью развернутые листья инфильтрованы суспензиями клеток *P. carotovorum* JN42 (а–в) или VKE (з–е) плотностью $5 \cdot 10^7$ клеток/мл. Фотографии сделаны через 24 ч после инфильтрации

кать выгоду из гибели клеток растения и успешно распространяться за пределы зоны первичного проникновения, используя широкий спектр продуцируемых им гидролитических экзоферментов для разрушения растительных клеточных стенок. Таким образом, события в листьях *N. benthamiana* при их инфицировании бактериями *Pca* напоминают таковые при инфекции клубней картофеля: гибель клеток в зоне непосредственного контакта с патогеном с последующей утилизацией высвобождающихся питательных веществ.

Ранее мы показали, что при инфекции клубней картофеля эффекторный белок DspE, доставляемый бактериями *Pca* непосредственно в клетки растений, необходим патогену для блокирования системных защитных реакций [7]. Можно предположить, что ту же функцию DspE выполняет и в клетках *N. benthamiana*.

Роль белка RLK5 (и его ближайших гомологов) в растениях в настоящий момент неизвестна, тем не менее, можно предположить, что, как и все изученные рецепторные киназы растений, RLK5 входит в состав гетеродимерных (или гетеромультимерных) рецепторных комплексов. Такой рецепторный комплекс, аналогично FLS2-BAK1, мог бы запускать каскад реакций, активирующих врожденный иммунитет растения, но в таком случае инактивация RLK5 повысила бы чувствительность к патогену. Поскольку инактивация RLK5, наоборот, делает растения *N. benthamiana* устойчивыми к бактериям *Pca*, можно предложить следующий механизм взаимодействия данной пары патоген–растение. DspE за счет контакта с киназным доменом RLK5 (и, возможно, других RLK) меняет структуру рецепторного комплекса (по любому из возможных механизмов, включая ферментативный), что в соответствии с гипотезой стража [15] детектируется белком из NBS-LRR семейства и приводит к запуску эффектор-индуцируемого иммунитета (ETI). Индукция ETI приводит к гибели клеток растения, непосредственно контактирующих с патогеном и должна активировать системную устойчивость. Однако поскольку DspE блокирует системную устойчивость, индукция ETI в данном случае не препятствует дальнейшему распространению патогена, что и наблюдается через 48 ч после инокуляции. Таким образом, можно заключить, что некротрофный патоген *Pca* эксплуатирует в свою пользу стандартный механизм эффектор-индуцируемой устойчивости растения.

Заключение. В заключение следует отметить, что представленные в настоящей работе результаты позволяют предложить простой способ получения растений, устойчивых к бактериям *Pca* (а возможно, и к другим некротрофным патогенам). Инактивация гена *RLK5* за счет направленного мутагенеза или трансгенного сайленсинга должна повысить устойчивость растений к патогенам, эксплуатирующим механизм ETI по описанному выше принципу. Естественно, что для каждой конкретной пары патоген–хозяин потребуются экспериментальная верификация участия RLK5 в распознавании патогена. Наиболее многообещающими в этом плане представляются растения картофеля и томата.

Авторы выражают благодарность Arabidopsis Biological Resource Center (Ohio State University, USA) за предоставленные векторы на основе TRV и их производные, а также Д. Г. Ярмолинскому (Институт генетики и цитологии НАН Беларуси) – за штаммы и плазмиды *S. cerevisiae*.

Литература

1. Chinchilla D. et al. // Nature. 2007. Vol. 448, N 7152. P. 497–500.
2. Block A., Alfano J. R. // Current Opinion in Microbiology. 2011. Vol. 14. P. 39–46.
3. Евтушенко А. Н. и др. // Избр. науч. тр. Белорусского гос. ун-та. Минск, 2001. Т. 7. С. 79–101.
4. Ageichik A. V., Evtushenkov A. N., Nikolaichik Y. A. // Plant Protection Science. 2002. Vol. 38, N Sp. Issue 2. P. 523–527.
5. Николайчик Е. А. и др. // Докл. НАН Беларуси. 2005. Т. 49, № 5. С. 81–85.
6. Николайчик Е. А. и др. // Труды БГУ. 2008. Т. 2. С. 200–213.
7. Николайчик Е. А., Хомская Л. Л., Игнатенко Е. И. // Труды БГУ. 2009. Т. 4. С. 197–204.
8. Meng X. et al. // Mol. Plant Microbe Interact. 2006. Vol. 19, N 1. P. 53–61.
9. Serebriiskii I. G., Golemis E. A., Uetz P. // The Proteomics Protocols Handbook / ed. J. M. Walker. Totowa; NJ, 2005. P. 653–682.
10. Валентович Л. Н. Молекулярно-биологическая характеристика dsp-оперона фитопатогенных бактерий *Erwinia carotovora*: дисс. ... канд. биол. наук. Минск, 2010. – 108 с.
11. Liu Y., Schiff M., Dinesh-Kumar S. P. // The Plant J. 2002. Vol. 31, N 6. P. 777–786.

12. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato // *Nature*. 2011. Vol. 475, N 7355. P. 189–195.
13. *Senthil-Kumar M.* et al. // *New Phytol.* 2007. Vol. 176, N 4. P. 782–791.
14. *Wang K.* et al. // *Mol. Plant Pathol.* 2010. Vol. 11, N 5. P. 597–611.
15. *Jones J. D. G., Dangl J. L.* // *Nature*. 2006. Vol. 444, N 7117. P. 323–329.

Y. A. NIKOLAICHIK, E. V. KULIK, O. A. BADALYAN, L. N. VALENTOVICH, S. V. KUZMICH, A. N. EVTUSHENKOV

nikolaichik@bio.bsu.by

RECEPTOR-LIKE TRANSMEMBRANE KINASE OF SOLANACEAE PLANTS CONTROLS INTERACTION WITH PLANT PATHOGEN *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM*

Summary

Plant pathogen *Pectobacterium carotovorum* is capable of delivering the effector protein DspE into plant cells, which is required for blocking systemic defense reactions of a plant. Here we demonstrate with the help of yeast two-hybrid system that DspE directly interacts with cytoplasmic kinase domains of two homologous receptor-like transmembrane kinases named RLK5 of tobacco and tomato plants. Silencing of the *RLK5* gene in *N. benthamiana* plants blocks both the hypersensitive reaction and the disease development. A possible place of RLK5 in a signal chain during interaction of *Pectobacterium carotovorum* with sensitive and resistant plants is discussed.