Многофакторная патч-кламп-спектроскопия как метод характеристики сигнальных систем растений и источник комплементарных систематических дескрипторов для биохимической таксономии с привязкой к биогеографическим картам и данным корреляционной феноспектральной ауксанометрии

Multiparametric multivariate patch-clamp-spectroscopy as a method for plant signaling characterization and complementary systematic descriptor for biochemical taxonomy and biogeographic biochemical plant signaling mapping based on correlational phenospectral auxanometry

Градов О.В.

ИНЭПХФ РАН, Москва, Ленинский пр., д. 38, к. 2

gradov@chph.ras.ru, gradoff@bioinformatics.ru

Общеизвестна и неоспорима роль ионных каналов в реализации комплексного клеточного сигналинга у растений. Начиная с обзора Циммермана с соавторами (doi: 10.1007/s000180050284), широкое распространение получило использование методов локальной фиксации потенциала (патч-кламп) в исследовании комплексных и регулируемых условиями среды (pH, концентрацией солей / удельной электропроводностью, концентрациями и осмотическими параметрами ионов и т.д.) характеристик сигналинга, являющихся, по сути, характеристиками и дескрипторами отклика на данные регуляторы. Показано, что ряд ионов, таких как Ca^{2+} , участвуют в регуляции в сигнальных сетях, опосредованной редокс-факторами (в том числе – активными формами кислорода) и УЭП (хронологически новейшие данные см. во “Frontiers in Plant Science” 2015 года – {doi: 10.3389/fpls.2015.00427}). Таким образом, отклик каналом (channelome – полная совокупность мембранных ионных каналов и поринов) и связанных с ним сигнальных путей растений зависит от условий среды, которые определяются экологическими и биогеографическими факторами. Уже на симпозиуме «Plant Signaling 2000» (Pennsylvania State University, май 2000 г.) более, чем полтора десятилетия тому назад, ставился акцент на экофизиологическое понимание систем сигналинга. Очевидно, что солевые и кислотные свойства почв зависят от географической зональности, а время герминации и вегетации, регулируемое внешними факторами, различно для разных биогеографических зон, что позволяет формулировать определенные корреляционные зависимости между биогеографическими свойствами среды, фенологическими экофизиологическими характеристиками растений и параметрами сигналинга ионных каналов на базе методов многомерного статистического анализа (включая MANOVA и MANCOVA). Различие в концентрации солей сопряжено с подстройкой сигналинга к различным стадиям роста и развития растений (см., напр., работу 2015 г. Жульковской и Тестерник в “Trends in Plant Science”; doi: 10.1016/j.tplants.2015.06.008), по причине чего возможна также классификация стадий, на которых находится растение в тот или иной момент

С-1. Системная биология растений

в рамках феноспектральной периодизации, по отклику на соли / составляющие их ионы (хотя бы в рамках модели «черного ящика», сопоставляя исходное и индуцированное состояние сигнальной активности). Кластеризация и феноспектральная классификация данных состояний, являясь методом многомерной кластеризации, вследствие зависимости сигнальных путей отклика от множества стрессоров или факторов одновременно (что считается на данный момент существенной трудностью в области *data mining*, интеллектуального анализа данных – об этом доказательно рассказано в последней статье Хубера и Бауэрля в оксфордском “Journal of Experimental Botany” – в мартовском выпуске 2016 года; doi: 10.1093/jxb/erw099), должна учитывать комплекс критериев нормального и экзогенного происхождения, часто конкурирующих друг с другом и ведущих к контрнаправленным эффектам отклика. В апреле 2012 года в “Nature Chemical Biology” был опубликован отклик Ваннесте и Фримла на статью “A combinatorial TIR1/AFB-Aux/IAA co-receptor system for differential sensing of auxin”, в котором, с реакционно-диффузионных, по существу, градиентных позиций рассматривалось влияние комплексов, включающих в себя ауксин и репрессор транскрипции, на разнообразие транскрипционных программ, активируемых градиентными уровнями ауксина в разных модальностях развития (“Deconstructing auxin sensing”; doi:10.1038/nchembio.943). С позиций каналомики растений, исследуемой методами патч-кламп, заимствованными из нейрофизиологии: если интерпретировать системы сигналинга растений как «нейробиологию растений» в рамках концепции Бреннера с соавторами (“Plant neurobiology: an integrated view of plant signaling”; doi: 10.1016/j.tplants.2006.06.009), задача оценки подобных контрнаправленных механизмов может быть сведена к оценке фитоэлектрофизиологического эффекта действия соответствующих факторов (как иррадиации и концентрации электробиохимического генеза, связанного с изменением мембранных потенциалов в ходе перестройки путей сигналинга). Однако проблема не может быть решена простой визуальной или монофакторной метрической оценкой отклика в силу разнообразия индуцирующих факторов и многофакторного характера отклика на комплекс индуцирующих факторов среды в условиях фенологически-трактуемого химизма герминационных, вегетационных и т.п. процессов, в связи с чем нами предлагается кардинально новый подход к оценке данных эффектов, основанный на многомерном анализе и псевдоспектральной обработке данных патч-кламп-регистраграмм, в том числе – в режиме реального времени *in situ*, в корреляции с регистраграммами и машинограммами кластеризации факторов, индуцирующих или же сопровождающих изменение биоэлектrogenеза у данных растений («феноспектральные» данные; концентрации ауксинов в среде и целевых ионов в почве и / или жидкости; кондуктометрические и редоксметрические данные об окружении и т.д.). В силу приспособленности растений к условиям среды и специфичности отклика данных растений на её изменение, адекватное изменению фенологической или биогеографической позиции, результаты применения данного подхода (после обучения создаваемой экспертной системы на большой выборке данных по известным

примерам корреляций) могут быть использованы как таксономический критерий либо как критерий биогеографического или фенологического анализа.

Содержание флоротаннинов в разных частях таллома бурой макрофитной водоросли *Fucus vesiculosus* L.

Phlorotannin content in different thallus zones of brown macroalga *Fucus vesiculosus* L.

Лемешева В.С., Тараховская Е.Р.

Санкт-Петербургский Государственный университет, Университетская наб. 7/9, Санкт-Петербург, Россия

+7 812 328-96-95, st035098@student.spbu.ru

Флоротаннины – специфическая группа вторичных метаболитов бурых водорослей. Это полифенолы, структурным мономером которых является флороглюцин (1,3,5-триоксибензол), разная степень полимеризации которого приводит к образованию молекул от 126 Да до 650 кДа. Флоротаннины присутствуют в тканях водорослей в значительных количествах (до 25% сухой массы). Спектр предполагаемых функций этих соединений включает в себя: участие в формировании клеточной стенки и адгезивного материала водорослей, предотвращение биообрастания макрофитов, обеспечение химической защиты от поедания моллюсками, участие в системе нейтрализации оксидативного и цитотоксического эффектов ультрафиолетового излучения. Несмотря на значительный интерес к этим веществам как к потенциальным источникам биологически активных соединений, на сегодняшний день, флоротаннины остаются одной из наименее изученных групп метаболитов водорослей с точки зрения их участия в физиологических процессах.

Цель нашего исследования состоит в определении количественного содержания растворимых и связанных с клеточной стенкой флоротаннинов в разных частях таллома *F. vesiculosus* и выявлении возможных взаимосвязей распределения этих соединений с их функциями.

Определение количественного состава флоротаннинов проводили в четырех зонах таллома *F. vesiculosus* – в основании таллома, центральной части, вегетативных апексах и зрелых рецептакулах. Количество флоротаннинов измеряли спектрофотометрически с использованием реактива Фолина-Чокалтеу. Были исследованы экстракты растворимых флоротаннинов, а также флоротаннинов клеточной стенки, выделенных методом щелочного гидролиза. Содержание свободного мономера флоротаннинов – флороглюцина – определяли при помощи GC-MS-анализа метанольных экстрактов.

Общее содержание флоротаннинов в тканях *F. vesiculosus* варьировало от 1,8 до 6,2% сыр. массы. Основание и средняя зона таллома характеризуются значительно (в 2-3 раза) более высоким содержанием всех исследованных