



ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЦЕЛЛЮЛОЗОСИНТАЗ ПРИ ГРАВИСТИМУЛЯЦИИ РАСТЕНИЙ ЛЬНА (*Linum usitatissimum*) И ТОПОЛЯ (*Populus alba* × *tremula*)

© 2022 г. Н. Е. Мокшина*, **, #, П. В. Микшина*, Т. А. Горшкова*

*Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение
ФИЦ Казанский научный центр РАН, Россия, 420111 Казань, ул. Лобачевского, 2/31

**Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, 420008 Казань, ул. Кремлевская, 18

Поступила в редакцию 29.10.2021 г.

После доработки 29.11.2021 г.

Принята к публикации 13.12.2021 г.

Биосинтез растительной целлюлозы осуществляется мембранным комплексом изоферментов с участием ряда коферментов. Принято считать, что целлюлозосинтазные комплексы, синтезирующие первичную и вторичную клеточную стенку, различаются по составу изоферментов. Некоторые растительные волокна, включая флоэмные волокна льна и ксилемные волокна древесины натяжения тополя, формируют третичную клеточную стенку, которая характеризуется повышенным содержанием целлюлозы и пониженным содержанием ксилана и лигнина. Состав и типы целлюлозосинтазных комплексов, вовлеченных в биосинтез третичной клеточной стенки, до сих пор не установлены. Опираясь на транскриптомные данные для растений льна (*Linum usitatissimum*) и тополя (*Populus alba* × *tremula*), мы оценили экспрессию генов, кодирующих целлюлозосинтазы, в ходе развития гравитропической реакции с участием флоэмных и/или ксилемных волокон, формирующих третичную клеточную стенку. Изменения в экспрессии генов целлюлозосинтаз, характерных как для первичных, так и для вторичных клеточных стенок, в различных модельных системах свидетельствуют о подвижности ансамбля различных изоформ целлюлозосинтаз при реализации гравитовета, который может затрагивать как отдельный тип клеток, так и совокупность тканей с различными типами клеточных стенок. На выделенных флоэмных волокнах льна продемонстрирована вовлеченность целлюлозосинтаз обоих типов в формирование третичной клеточной стенки на всех стадиях гравитовета.

Ключевые слова: целлюлозосинтазы, третичная клеточная стенка, растительные волокна, транскриптомный анализ

DOI: 10.31857/S0132342322030137

ВВЕДЕНИЕ

Целлюлоза, будучи неизменным компонентом клеточной стенки любой растительной клетки, выступает самым распространенным биополимером на нашей планете. Несмотря на то, что с химической точки зрения целлюлоза устроена достаточно просто и представляет собой β -1,4-D-

глюкан, элементарное звено которого – β -целлобиоза (β -D-глюкопиранозил-(1,4)- β -D-глюкопираноза), биосинтез ее молекул в растениях осуществляется сложноорганизованной многокомпонентной системой ферментов. Центральное положение в этой системе занимают целлюлозосинтазы (CESA), принадлежащие к семейству 2 гликозилтрансфераз (GT2, EC 2.4.1.12, согласно CAZy). CESA собраны в мембранные комплексы, так называемые “розетки”, при этом каждый фермент такого комплекса синтезирует отдельную глюкановую цепь. На данный момент принято считать, что розетка состоит из шести “лепестков”, а “лепесток” розетки – из трех индивидуальных белков CESA; таким образом, один комплекс синтезирует микрофибриллу целлюлозы, которая состоит из 18 глюкановых цепей [1, 2]. В геноме резуховидки (*Arabidopsis thaliana*) идентифицировано 10 генов, кодирующих CESA [3]. Из-

Сокращения: CESA – целлюлозосинтазы; PCW – первичная клеточная стенка; SCW – вторичная клеточная стенка; PCW CESA и SCW CESA – целлюлозосинтазы, синтезирующие целлюлозу первичных и вторичных клеточных стенок соответственно; PUL – тянущая сторона стебля гравитостимулированного растения (pulling); OPP – сторона стебля, противоположная тянущей стороне (opposite); TW – древесина натяжения; OW – древесина, расположенная с противоположной стороны от древесины натяжения; NW – нормальная древесина; TGR – количество прочтений, картируемых на каждый ген (total gene reads).

Автор для связи: (тел.: +7 (843) 231-90-39; эл. почта: ne_mokshina@kibb.knc.ru).

вестно, что набор изоформ CESA отличается для первичных и вторичных клеточных стенок, формирующихся на разных стадиях развития клеток и имеющих различные свойства и функции. Так, целлюлозу первичных клеточных стенок синтезируют изоформы CESA1, 3, 6 (далее PCW CESA, PCW – primary cell wall), а вторичных – CESA4, 7, 8 (далее SCW CESA, SCW – secondary cell wall) [4, 5]. CESA10 – близкий гомолог CESA1; CESA2, 5, 9 – близкие гомологи CESA6 [6]. Интересно, что *in vitro* каждая изоформа CESA может взаимодействовать с любой другой изоформой [7]. Кроме того, есть единичные сообщения, согласно которым экспрессия генов PCW CESA сохраняется в клетках ксилемных сосудов, которые формируют вторичную клеточную стенку. Это может быть связано с тем, что клеткам необходимо перестроиться с биосинтеза первичной клеточной стенки на биосинтез вторичной, и какое-то время оба типа комплекса могут функционировать на плазмалемме одновременно [8]. Некоторые ученые выдвигают и более смелые предположения, согласно которым вторичную клеточную стенку синтезируют оба типа комплексов [9].

“Поведение” целлюлозосинтазных комплексов в ходе формирования третичной клеточной стенки, которая обнаруживается только в волокнах и для которой характерно очень высокое содержание целлюлозы – до 85–90% [10], пока исследовано крайне слабо. Широко используемыми моделями для изучения формирования третичной клеточной стенки служат волокна льна (*Linum usitatissimum* L.) и древесина натяжения тополя (*Populus* sp.) [11, 12]. Флоэмные волокна льна после прекращения роста растяжением (интрузивный рост) формируют утолщенную третичную клеточную стенку; следует отметить, что этому процессу предшествует отложение тонкого слоя вторичной клеточной стенки, который выявляется только при иммуномечении [13]. Формирование третичной клеточной стенки во флоэмных волокнах льна происходит конститутивно, в ходе нормального развития растений. Высокая механическая прочность и собранность в пучки позволяют быстро извлекать флоэмные волокна льна, развивающиеся *in planta*, что дает возможность анализировать определенный тип клеток на определенной стадии их развития, и избежать проблем в интерпретации результатов, которые возникают при анализе гетерогенных образцов, состоящих из разных типов клеток.

В геноме льна (*L. usitatissimum*) выявлено 16 генов целлюлозосинтаз (*LusCESA*), из которых, судя по гомологии с генами резуховидки (*A. thaliana*), 11 генов кодируют PCW CESA, а 5 – SCW CESA [14]. Первые сведения, касающиеся экспрессии генов целлюлозосинтаз в волокнах льна [14], были получены вскоре после расшифровки генома льна [15]. С использованием количествен-

ной ПЦР было показано, что на стадии формирования третичной клеточной стенки экспрессия генов SCW *LusCESA* выше, чем в тканях, формирующих первичную клеточную стенку. Транскриптомный анализ позволил оценить экспрессию генов всех изоформ *LusCESA* в волокнах на разных стадиях развития и установить, что в волокнах, формирующих первичную клеточную стенку, экспрессируются только гены PCW *LusCESA*, тогда как в волокнах, формирующих третичную клеточную стенку, экспрессируются как гены PCW *LusCESA*, так и SCW *LusCESA* [16].

В ксилемных волокнах древесины натяжения тополя (*Populus* sp.) также формируется третичная клеточная стенка (альтернативное название – G-слой вторичной клеточной стенки [17]). По составу и структуре она схожа с третичной клеточной стенкой волокон льна [18], но ее формирование индуцируется гравистимуляцией (наклон стебля), в отличие от флоэмных волокон льна, в которых формирование третичной клеточной стенки происходит конститутивно. В ходе ответа на гравистимуляцию развитие стебля в участке, где формируется изгиб, происходит асимметрично: древесина натяжения и волокна с третичной клеточной стенкой, как ее характерный элемент, образуются только с одной, тянущей стороны стебля; с противоположной стороны такие изменения отсутствуют. В геноме тополя (*Populus trichocarpa*) идентифицировано 17 генов, кодирующих PtiCESA [19], их филогения сходна с филогенией целлюлозосинтаз льна [14]. Третичная клеточная стенка может индуцироваться в ксилемных волокнах и у растений льна, подвергнутых гравистимуляции [20, 21]. По механизмам формирования она должна быть близка к третичной клеточной стенке в ксилемных волокнах древесины натяжения тополя. При этом в ходе гравитропического ответа происходят существенные изменения и в конститутивно формируемой третичной клеточной стенке флоэмных волокон [20, 22]. Через 8 ч после гравистимуляции активируется экспрессия генов некоторых изоформ *LusCESA* во флоэмных волокнах, расположенных на верхней (тянущей) стороне стебля: *LusCESA1-A*, *LusCESA3-B,3-C*, *LusCESA4*, *LusCESA7-B*, *LusCESA8-B* [16].

Накопление и систематизация транскриптомных данных для льна и тополя привели к созданию онлайн-платформы FIBexDB (<https://ssl.crest.org/fibex/>, [23]), которая позволяет анализировать и сопоставлять экспрессию генов целлюлозосинтаз в различных тканях стебля льна и тополя в ходе развития гравитропического ответа. Цель данной работы – выявить особенности экспрессии генов целлюлозосинтаз в волокнах различного происхождения, формирующих утолщенную третичную клеточную стенку, обогащенную целлюлозой. В работе рассмотрены три различные системы: 1) флоэмные во-

(а) Механизмы формирования третичной клеточной стенки: экспрессия *CESA*

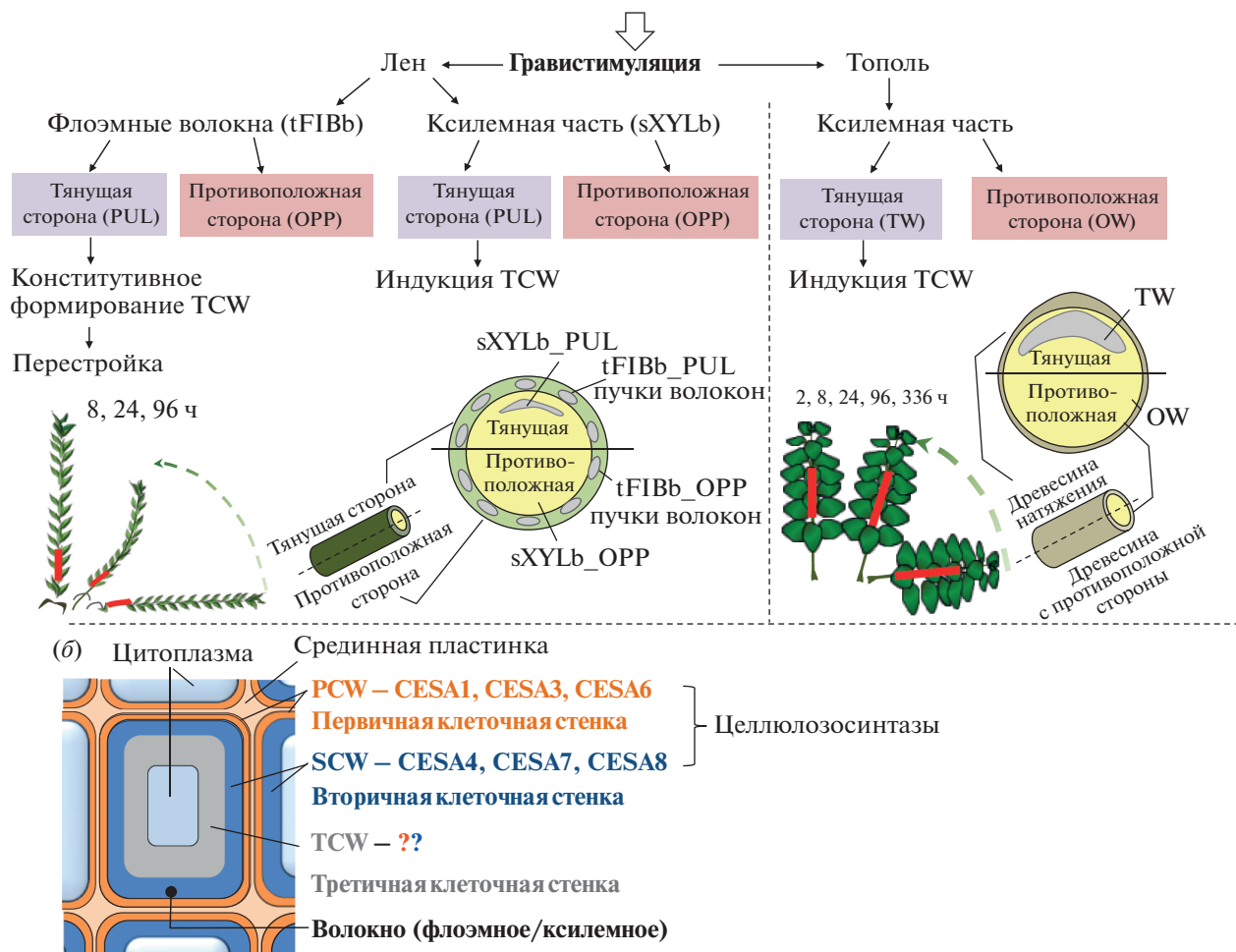


Рис. 1. (а) – Модели для исследования механизмов формирования третичной клеточной стенки и схема отбора образцов льна [16, 20, 21, 24] и тополя [25]; (б) – слои клеточной стенки и изоформы целлюлозосинтаз (CESA), вовлеченные в их формирование [4, 5].

локна льна в условиях гравистимуляции, которые в норме формируют третичную клеточную стенку (конститутивно); 2) ксилемная часть растений льна (*L. usitatissimum*), в ксилемных волокнах которой индуцируется формирование третичной клеточной стенки в ходе гравистимуляции; 3) древесина натяжения тополя (*Populus alba* × *tremula*), в ксилемных волокнах которой формируется третичная клеточная стенка (рис. 1). Сопоставление уровня экспрессии генов различных целлюлозосинтаз в этих системах позволяет приблизиться к пониманию механизмов биосинтеза целлюлозы в третичной клеточной стенке, которые до сих пор не расшифрованы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экспрессия генов целлюлозосинтаз в тканях стебля льна (*L. usitatissimum*) при гравистимуляции. Сопоставление экспрессии генов целлюлозосин-

таз в ходе гравитропического ответа растений льна проводили на основе ранее проведенных экспериментов, первичные результаты которых депонированы в базе данных NCBI (PRJNA631357) и внесены в базу данных FIBexDB. Описание методики транскриптомного анализа приведено в соответствующих публикациях [16, 21, 24]. Гравистимуляция в этих работах достигалась путем наклона растений льна; при последующем развитии гравитропического ответа были отобраны образцы изолированных флоэмных волокон (tFIB) и ксилемной части стебля (sXYL) с тянушей (PUL, от англ. pulling) и противоположной стороны стебля (OPP, от англ. opposite) через 8, 24 и 96 ч после наклона (рис. 1). Через 96 ч стебель растения выше изгиба (сформирован в области 3–5 см выше семядольных листьев) принимал вертикальное положение. Ранее было показано, что гравистимуляция приводит к появлению видимых морфологических изменений во флоэмных волокнах (расширение люмена

волокон, формирование “перетяжек” [20]), а также к изменениям в экспрессии ряда генов, продукты которых вовлечены в формирование клеточной стенки [24], и модификациям в межмолекулярных взаимодействиях между полисахаридами клеточной стенки [22]. Также гравистимуляция индуцировала формирование третичной клеточной стенки в ксилемных волокнах [21].

Мы рассмотрели экспрессию генов *LusCESA* в ходе развития гравииответа в анализируемых тканях льна. И во флоэмных волокнах, и в ксилемной части стебля экспрессировались гены *LusCESA*, продукты которых синтезируют целлюлозу как первичной, так и вторичной клеточной стенки (рис. 2а). При этом в ксилемной части стебля гены *SCW LusCESA* были активированы в большей степени по сравнению с флоэмными волокнами, тогда как гены *PCW LusCESA* экспрессировались примерно на одинаковом уровне во всех анализируемых образцах. Ксилемная часть стебля представляет собой смесь тканей, в которой присутствуют клетки с первичной клеточной стенкой, при этом большая часть представлена сосудами и волокнами, которые формируют вторичную клеточную стенку. В таком случае, если опираться на классические представления о формировании клеточных стенок, в ксилемной части стебля экспрессию генов *PCW LusCESA* мы можем ассоциировать с формированием клеточных стенок паренхимы, молодых сосудов и волокон, а повышенную экспрессию генов *SCW LusCESA* – с формированием вторичной клеточной стенки в зрелых сосудах и волокнах, которые преобладают в этой части стебля. Более того, известно, что при переходе от синтеза первичной клеточной стенки к отложению вторичной какое-то время возможно сосуществование двух типов комплексов [8].

Во флоэмных волокнах, формирующих третичную клеточную стенку, экспрессия генов *PCW LusCESA* была примерно на том же уровне, что и в ксилемной ткани, и даже более выражена для некоторых изоформ на ранних стадиях гравииответа (8 и 24 ч) в волокнах с тянущей части стебля. При этом образцы изолированных волокон обогащены именно волокнами с третичной клеточной стенкой, а не выступают смесью тканей, как ксилемная часть. Это означает, что по крайней мере в одном типе клеток – волокнах, формирующих третичную клеточную стенку, – одновременно экспрессируются и *PCW LusCESA*, и *SCW LusCESA*, причем это наблюдается и в контрольных растениях, и на разных стадиях развития гравииответа.

Если сравнить экспрессию *LusCESA* во флоэмных волокнах и ксилемной части гравистимулированных и контрольных растений (рис. 2б), то существенные изменения в экспрессии *LusCESA* отчетливо детектировались в изолированных

флоэмных волокнах. При этом изменения наблюдались как с тянущей, так и с противоположной стороны стебля, хотя и в разных временных точках: повышение экспрессии большинства генов *PCW* и *SCW LusCESA* отмечалось в волокнах с тянущей стороны уже после 8 ч после наклона, тогда как с противоположной стороны стебля максимальные отличия с контрольными растениями наблюдались позднее (24 ч после наклона) (рис. 2б).

Если сравнить экспрессию генов *LusCESA* в изолированных волокнах одних и тех же растений, но отобранных с тянущей и противоположных сторон стебля (*PUL/OPP*), то очевидно, что более высокая их активация наблюдалась во флоэмных волокнах с тянущей стороны на ранней стадии гравииответа (8 ч) (рис. 2в). Именно в волокнах, локализованных на тянущей стороне стебля, наблюдаются существенные морфологические изменения в ходе гравииответа [20]. В ксилемной части стебля изменения в экспрессии были незначительными, хотя экспрессия некоторых генов *PCW LusCESA* повышалась в участках стебля с тянущей стороны, а на более поздних этапах (96 ч после наклона) отмечалось небольшое повышение экспрессии генов *SCW LusCESA* (рис. 2в). Поскольку в ксилемных волокнах с тянущей стороны стебля индуцируется формирование третичной клеточной стенки [20, 22], отсутствие выраженных вариаций в экспрессии различных генов *LusCESA* может быть связано с гетерогенностью образцов ксилемы, в которых количество клеток, формирующих третичную стенку, существенно ниже, чем клеток, откладывающих вторичную стенку. В последних, судя по полученным данным, экспрессия *LusCESA* не изменяется существенно в ответ на гравистимуляцию. Возможно также, что высокий уровень экспрессии *SCW LusCESA*, характерный для клеток ксилемы, формирующих вторичную клеточную стенку (рис. 2а), достаточен для запуска отложения третичной клеточной стенки в ходе гравииответа.

Кластеризация генов *LusCESA* по характеру изменения их экспрессии, проведенная для флоэмных волокон и образцов ксилемы льна, выявила в обоих случаях несколько групп генов (рис. 3). В некоторых из этих кластеров гены *PCW LusCESA* и *SCW LusCESA* были перемешаны друг с другом. Так, у флоэмных волокон во втором кластере *LusCESA8-A* соседствовал с двумя вариантами *LusCESA3* и с *LusCESA6-B*, а в третьем кластере присутствовали несколько вариантов *LusCESA6* и *LusCESA4* (рис. 3а). Аналогично, во второй кластер из образцов ксилемы попали несколько *SCW LusCESA* и *LusCESA3-C* (рис. 3б). Это может свидетельствовать о сходном характере регуляции некоторых *PCW* и *SCW LusCESA* при формировании третичной клеточной стенки, что не харак-

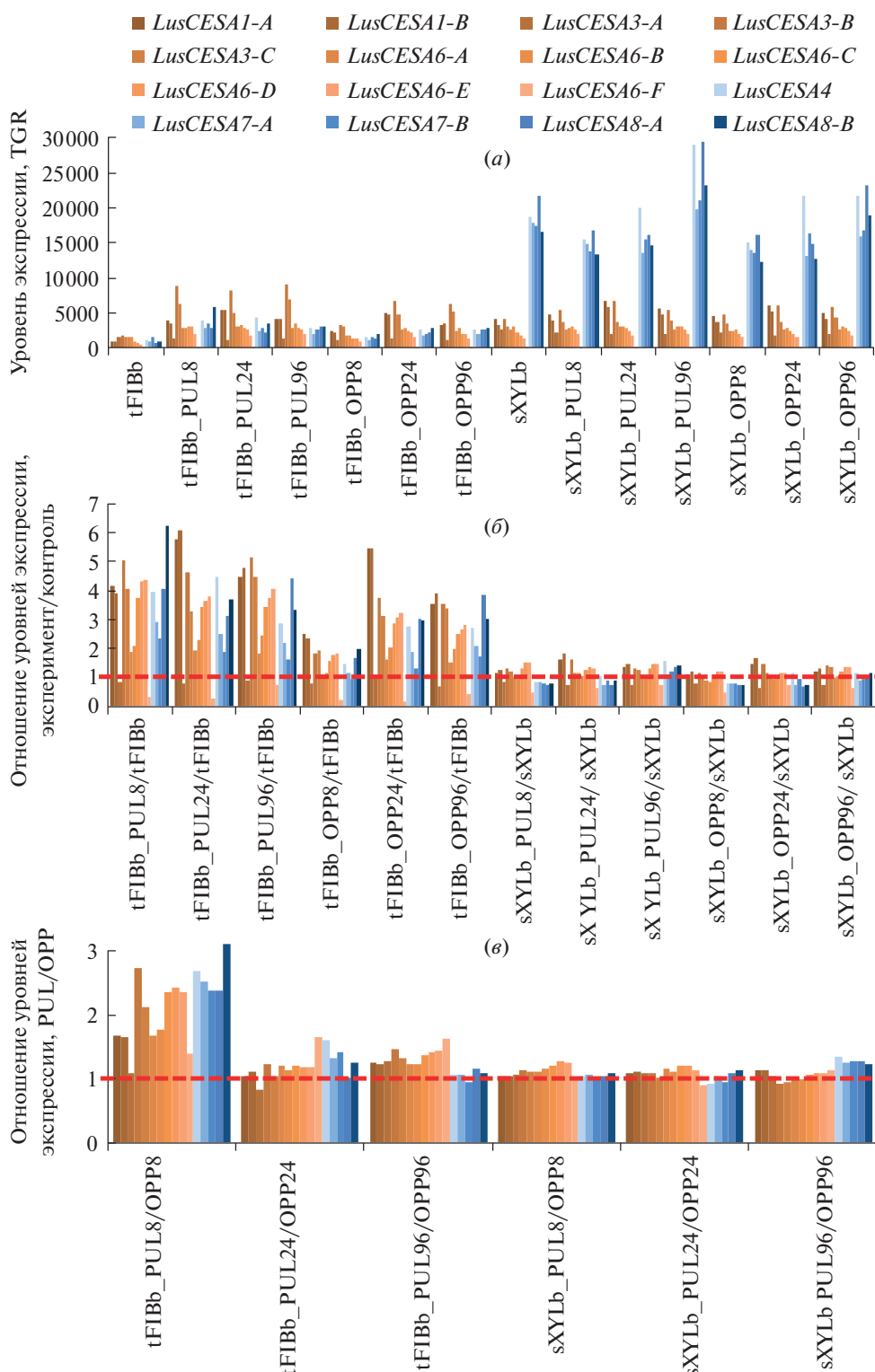


Рис. 2. (а) – Экспрессия генов *LusCESA* во флоэмных волокнах (tFIB) и ксилемной части (sXYL) на разных сторонах стебля льна (тянушей, PUL, и противоположной, OPP) в ходе развития гравивотвта (8, 24, 96 ч после наклона); (б) – отношение экспрессии генов *LusCESA* в тканях растений льна (tFIB_PUL, tFIB_OPP, sXYL_PUL, sXYL_OPP) в ходе развития гравивотвта (8, 24, 96 ч после наклона) к экспрессии генов в соответствующих тканях контрольных растений, которые не подвергались гравистимуляции (tFIBb, sXYLb); (в) – отношение экспрессии генов *LusCESA* в тканях растений льна (tFIB, sXYL), отобранных с тянушей стороны стебля (PUL), к экспрессии генов в тканях из соответствующих участков стебля, отобранных с противоположной стороны тех же растений (OPP), в ходе развития гравивотвта (8, 24, 96 ч после наклона). Оранжевые столбики – *LusCESA*, продукты которых вовлечены в формирование первичной клеточной стенки (PCW); синие столбики – *LusCESA*, продукты которых вовлечены в формирование вторичной клеточной стенки (SCW).

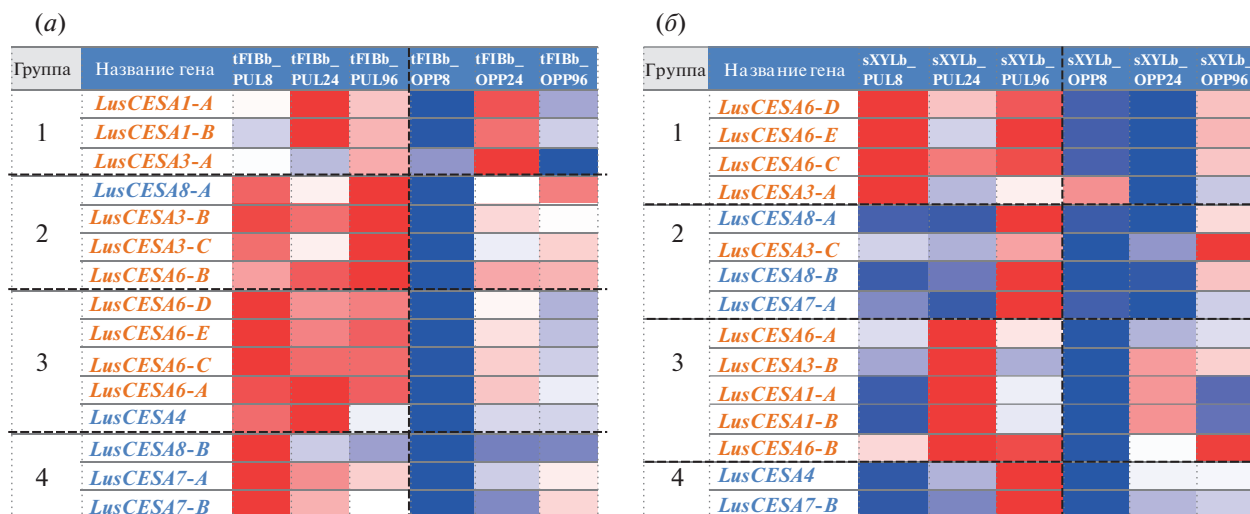


Рис. 3. Кластеризация генов *LusCESA* во флоэмных волокнах (а) и ксилемной части стебля льна (б) в ходе гравистимуляции (через 8, 24, 96 ч после наклона). tFIB_PUL и sXYL_PUL – изолированные флоэмные волокна и ксилемная часть соответственно с тянущей стороны стебля льна; tFIB_OPP и sXYL_OPP – изолированные флоэмные волокна и ксилемная часть соответственно с противоположной стороны стебля льна. Цвета тепловой карты отражают уровень экспрессии в горизонтальном ряду (образцы) от максимального (красный) до минимального (синий).

терно для других типов клеточных стенок. Последствия такой комбинации для свойств формируемых микрофибрилл целлюлозы еще предстоит выяснить.

Кластеризация четко выявляет различия в экспрессии *LusCESA* в образцах, отобранных с различных сторон стебля гравистимулированных растений льна (PUL и OPP). Особенно четко эти различия выявляются на изолированных флоэмных волокнах. Изучение особенностей строения целлюлозы гравистимулированных растений льна с помощью твердотельного ЯМР хоть и не выявило существенных различий в размерах макрофибрилл целлюлозы для PUL и контрольных образцов, но продемонстрировало существенные различия в их организации, а также в параметрах микрофибрилл, формирующих эти макрофибриллы. При гравистимуляции наблюдалось увеличение степени кристалличности целлюлозы (за счет увеличения размера кристаллического коагумента микрофибрилл), снижение отношения I_{α}/I_{β} (прежде всего, за счет возрастания доли β -алломорфа), уменьшение доли паракристаллической целлюлозы и снижение доли цепей недоступной поверхности микрофибрилл, погруженной внутрь макрофибриллы. Усиление упорядоченности сопровождалось снижением подвижности целлюлозы, что было продемонстрировано в SP/MAS ^{13}C -ЯМР-экспериментах [22].

Экспрессия генов целлюлозосинтаз в древесине тополя (*P. alba* × *tremula*) при гравистимуляции. Наиболее известный пример индуцированного формирования третичной клеточной стенки – древесина натяжения тополя (*Populus* sp.), в которой третичная клеточная стенка формируется в

ксилемных волокнах на верхней части ствола (стебля) при его наклоне. Отложение третичной клеточной стенки происходит в ксилемных волокнах, которые уже содержат выраженные слои вторичной (один или несколько) клеточной стенки [10]. Ранее уже отмечалось, что формирование желатинозного слоя (третичной клеточной стенки) в древесине натяжения осины (*Populus tremula*) сопровождается увеличением экспрессии гена *PtaCESA8-B*, а для остальных генов *SCW PtaCESA* отмечали снижение экспрессии по сравнению с нормальной древесиной [26]. При этом анализа экспрессии генов, кодирующих все изоформы CESA, в ходе развития гравитовеса в древесине натяжения (tension wood, TW) и сравнения их с нормальной древесиной (normal wood, NW) и с древесиной на противоположной стороне (opposite wood, OW) не проводилось. В своей работе для анализа экспрессии генов *Pa* × *tCESA* мы использовали данные для гибрида тополя белого и осины (*P. alba* × *tremula* INRA 717-1B4), размещенные в FIBexDB [25]. Для RNA-seq-анализа Zinkgraf et al. отбирали образцы древесины натяжения (TW) и образцы древесины с противоположной стороны (OW) через 2, 8, 24, 48, 96 и 336 ч после наклона растений. В качестве референсного генома при RNA-seq-анализе данных транскриптомов гибридного тополя *P. alba* × *tremula* использовали геном тополя *P. trichocarpa* [25]; различия в нуклеотидных последовательностях генов этих видов минимальны, об эффективности и допустимости такого анализа также говорится в работе Liu et al. [27].

При анализе экспрессии генов *Pa* × *tCESA* в древесине гибридного тополя ожидаемо выявлен

более высокий уровень экспрессии генов *SCW Pa×tCESA* по сравнению с *PCW Pa×tCESA* во всех тканях (рис. 4а). Экспрессия генов *SCW Pa×tCESA* (при усреднении экспрессии генов всех изоформ *PCW* и *SCW*) была выше в ~12.7 раз по сравнению с генами *PCW Pa×tCESA*: 28000 и 2200 прочтений, картируемых на каждый ген (total gene reads, TGR) соответственно. При этом наблюдалась разница в экспрессии генов различных изоформ (*PCW* и *SCW*) в разных образцах древесины, а также изменение в экспрессии генов различных изоформ в ходе развития гравитропической реакции. Так, во всех образцах древесины высокий уровень экспрессии был присущ гену *Pa×tCESA4*, а ген *Pa×tCESA8-A* имел минимальный уровень экспрессии среди генов *SCW Pa×tCESA* во всех образцах древесины.

При сравнении экспрессии *Pa×tCESA* в образце в ответ на гравистимуляцию древесине натяжения с нормальной древесиной (рис. 4б) показано, что экспрессия некоторых генов *PCW Pa×tCESA* и всех *SCW Pa×tCESA* подавлена в древесине с противоположной стороны (*OW*), тогда как некоторые гены *PCW Pa×tCESA*, наоборот, существенно активировались в этих образцах по сравнению с контролем. В древесине натяжения разница с контрольными образцами была не столь существенной (рис. 4б), при этом, начиная с 48 ч, наблюдалась активация экспрессии генов *SCW Pa×tCESA*. Поскольку образцы древесины представляют собой смесь тканей, в которых формируется и первичная, и вторичная клеточные стенки, то соотнести активацию определенных изоформ с формированием определенного типа клеточной стенки, опираясь на представленные данные, невозможно. При этом древесина натяжения отличается от нормальной древесины и древесины с противоположной стороны стебля, главным образом, наличием третичной клеточной стенки в ксилемных волокнах.

При сравнении транскрипционных профилей генов *Pa×tCESA* в образцах, которые отобраны с одних и тех же растений (древесина натяжения и древесина противоположной стороны стебля), в древесине натяжения была выявлена активация экспрессии некоторых генов *PCW Pa×tCESA* (*Pa×tCESA1-A, 3-A, 3-B, 6-A, 6-B, 6-D, 6-E*) и подавление экспрессии остальных генов *PCW Pa×tCESA* (рис. 4в). Максимальные различия в экспрессии генов *PCW Pa×tCESA* наблюдали через 48 и 96 ч после гравистимуляции, через 336 ч различия постепенно сглаживались, тогда как экспрессия некоторых генов *SCW Pa×tCESA* (*Pa×tCESA7-A, 8-A, 8-B*) активировалась в древесине натяжения по сравнению с древесиной, расположенной с противоположной стороны стебля, и достигала максимума через 336 ч (рис. 4в). Кла-

стеризация генов выявила группы, в каждой из которых представлены исключительно гены *PCW Pa×tCESA* либо *SCW Pa×tCESA* (рис. 5).

Сравнение экспрессии генов различных изоформ *CESA* в тканях стебля льна и тополя в ходе гравистимуляции. Во всех анализируемых нами системах представлены образцы тянущей части (*PUL, TW*) и противоположной части стебля (*OPP, OW*) гравистимулированного растения, что позволяет провести сопоставление динамики экспрессии *CESA* в ходе гравитоответа. Такое сопоставление опирается на результаты проведенного ранее филогенетического анализа аминокислотных последовательностей целлюлозосинтаз резуховидки (*A. thaliana*), льна (*L. usitatissimum*) и тополя (*P. trichocarpa*) [14], позволившего соотнести различные изоформы *CESA* и провести их обозначение с учетом степени родства. В геномах льна и тополя произошло увеличение числа всех изоформ *CESA* по сравнению с резуховидкой, при этом большинство ортологов в геноме льна имеют соответствующие ортологи в геноме у тополя, за исключением изоформы *PtiCESA3-D*, которая не выявлена у льна. Экспрессия для паралогов одного гена может иметь как сходную динамику, что может свидетельствовать об их схожих функциях, так и отличаться, что может свидетельствовать об их различных функциях. Чаще для *CESA* мы наблюдаем реализацию первого сценария, особенно при явной дупликации генов (например, *LusCESA1-A/B, LusCESA7-A/B*), а отличия в экспрессии выявляются для генов изоформ изклад с большим количеством представителей (например, *LusCESA3, LusCESA6*).

Сопоставление транскриптомных данных для разных модельных систем позволило обнаружить ряд закономерностей в динамике экспрессии генов *CESA* в ходе гравитоответа. В ксилемных образцах реакция развивалась позднее, чем во флоэмных волокнах, что, по всей видимости, связано с тем, что во флоэмных волокнах формирование третичной стенки уже отлажено, а в ксилемных образцах инициируется с нуля (рис. 6а, 6б). С этим же, вероятно, отчасти связана и на порядок более низкая экспрессия *SCW LusCESA* во флоэмных волокнах льна (даже на тянущей стороне стебля) по сравнению с ксилемными образцами из обоих проанализированных видов растений (рис. 7а, 7б). При этом основной причиной такого эффекта служит активное формирование вторичной клеточной стенки во многих тканях гетерогенных ксилемных образцов, тогда как в тканево-однородных флоэмных волокнах этот процесс полностью отсутствует. Очевидно, что при формировании третичной клеточной стенки гены *PCW* и *SCW CESA* экспрессируются примерно на одинаковом уровне, в то время как при от-

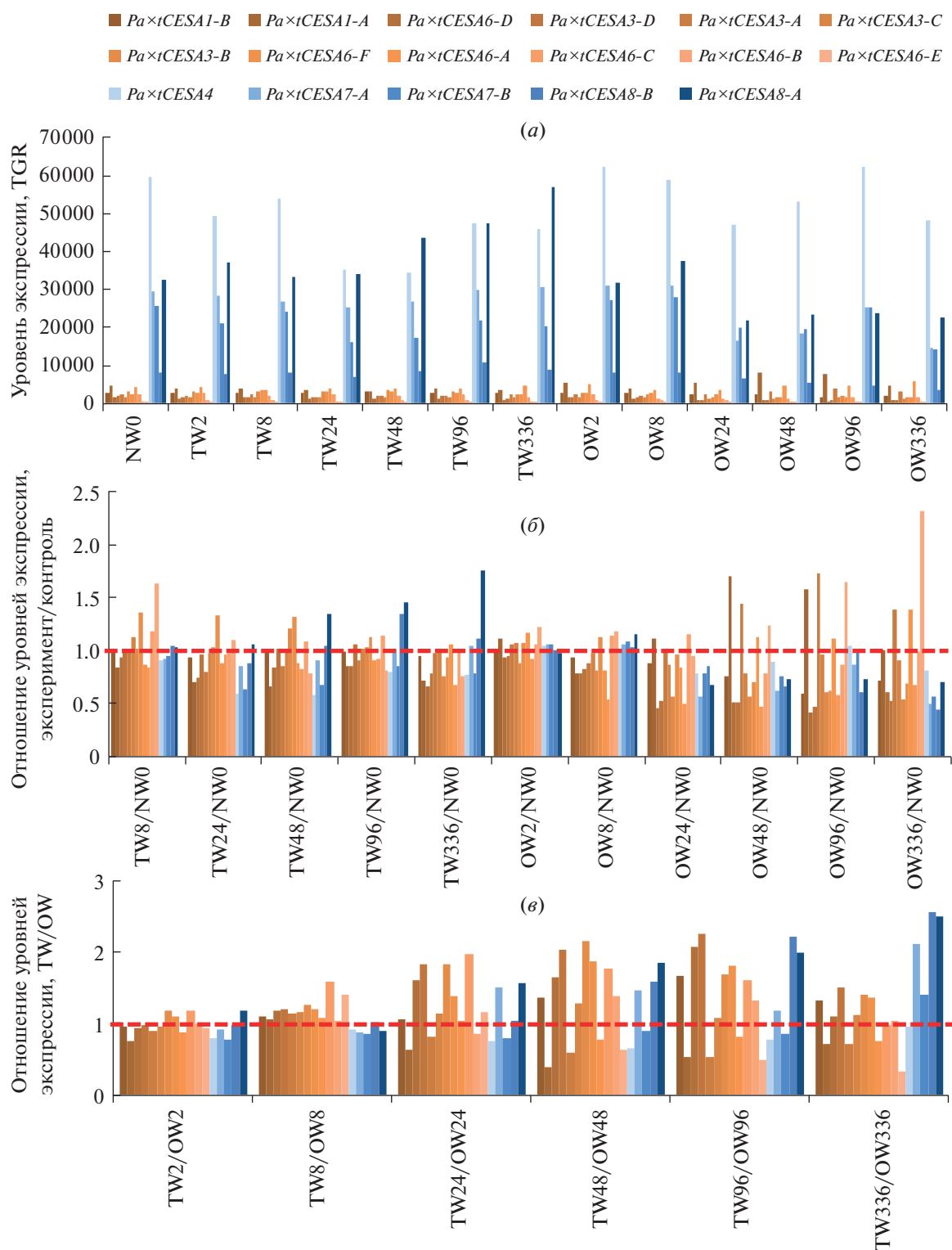


Рис. 4. (а) – Экспрессия генов *Pa×tCESA* в нормальной древесине (NW), в древесине натяжения (TW) и противоположной древесине (OW) гибридного тополя (*P. alba × tremula*) в ходе развития гравитовета (2, 8, 24, 48, 96, 336 ч после наклона); (б) – отношение уровня экспрессии генов *Pa×tCESA* в тканях древесины (OW, TW) в ходе развития гравитовета (2, 8, 24, 48, 96, 336 ч после наклона) к уровню экспрессии генов в древесине контрольных растений (NW); (в) – отношение уровня экспрессии генов *Pa×tCESA* в тканях древесины натяжения (TW) к уровню экспрессии генов в тканях древесины, противоположащей древесине натяжения (OW), в ходе развития гравитовета (2, 8, 24, 48, 96, 336 ч после наклона). Оранжевые столбики – *Pa×tCESA*, продукты которых вовлечены в формирование первичной клеточной стенки, синие столбики – *Pa×tCESA*, продукты которых вовлечены в формирование вторичной клеточной стенки.

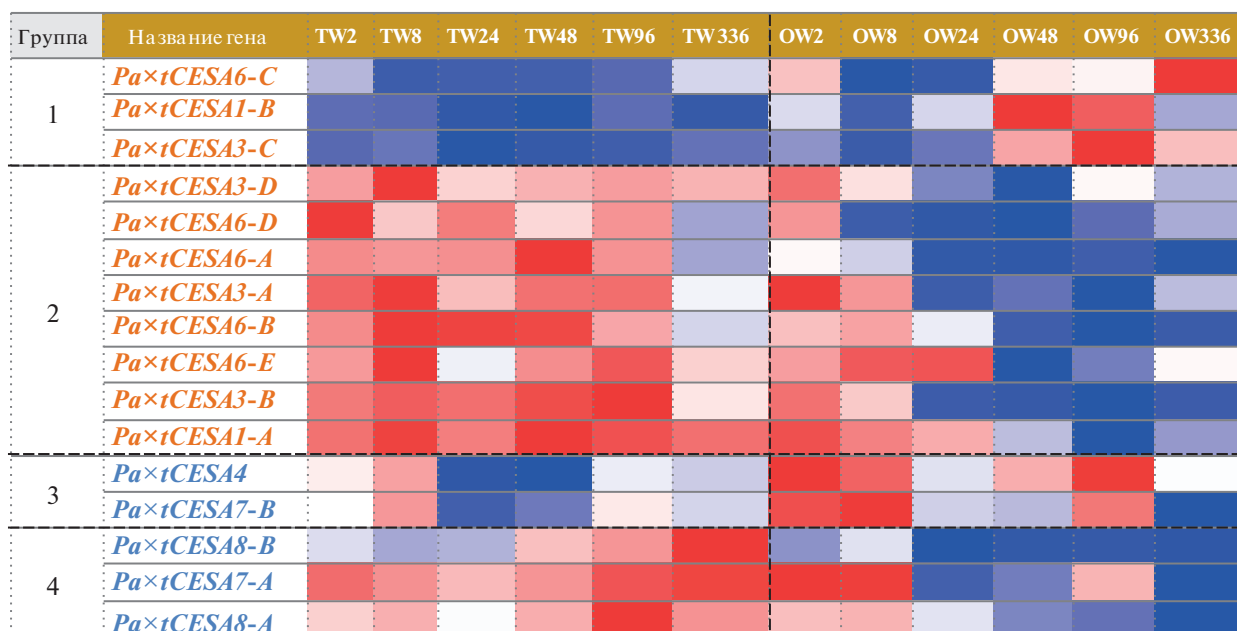


Рис. 5. Кластеризация генов *Pa×tCESA* в древесине натяжения (TW) и в древесине противоположной стороны стебля (OW) в ходе гравистимуляции тополя (через 2, 8, 24, 96, 336 ч после наклона). Цвета тепловой карты отражают уровень экспрессии в горизонтальном ряду (образцы) от максимального (красный) до минимального (синий).

ложении вторичной клеточной стенки этот баланс резко сдвинул в сторону *SCW CESA*.

Изменения экспрессии генов *Pa×tCESA* в древесине натяжения тополя более многоплановы, чем в образцах льна. Так, в ходе гравитовета наблюдалась активация экспрессии некоторых *Pa×tCESA* в ксилемных тканях, расположенных со стороны OW, по сравнению с TW (*Pa×tCESA1* и *Pa×tCESA4*; рис. 6в, 7в). В аналогичных образцах льна экспрессия ни одной из изоформ *LusCESA* в образце OPP не превышала таковую в образце PUL. Было высказано предположение, что механизмы биосинтеза клеточной стенки флоэмных волокон тополя могут отличаться от биосинтеза клеточной стенки ксилемных волокон с третичной клеточной стенкой, поскольку нокаут генов *SCW PtiCESA* по-разному сказывался на морфологии этих клеток [28]. При этом у льна все базовые характеристики третичной клеточной стенки, конститутивно формируемой во флоэмных волокнах, аналогичны таковым в индуцируемой в ксилемных волокнах в ходе гравитовета [21].

Разные гены, кодирующие различные изоформы одного и того же варианта целлюлозосинтазы (например, *CESA3*), имели различные паттерны экспрессии, причем некоторые закономерности выявлялись во всех проанализированных модельных системах. Так, ген *CESA6-F* имел существенно более низкий уровень экспрессии во всех образцах (лен и тополь) по сравнению с другими ге-

нами первичных изоформ (на порядок/порядки), что позволяет предположить функциональные отличия кодируемого им продукта от продуктов других *CESA6*. Наглядно продемонстрирована диверсификация экспрессии различных изоформ гена *LusCESA3*: наблюдалось увеличение экспрессии *LusCESA3-B* и *LusCESA3-C* в волокнах с тянущей стороны и низкий уровень экспрессии гена *LusCESA3-A* во всех проанализированных тканях (рис. 6а, 6б). Вероятно, продукт гена *LusCESA3-A*, как и *LusCESA6-F*, функционально отличается от других членов рассматриваемой клады и не ассоциирован с реализацией гравитовета.

В ходе развития гравитовета динамика экспрессии некоторых генов *CESA* сходным образом отличалась в образцах тянущей и противоположной стороны стебля во всех модельных системах. Так, во всех образцах с тянущей стороны стебля происходила активация экспрессии *CESA8-B* (рис. 7). Подобный эффект отмечался также в древесине натяжения осины (*P. tremula*); было даже высказано предположение, что третичная клеточная стенка в древесине натяжения синтезируется особым комплексом, который состоит исключительно из *CESA8-B* [26]. Это предположение было опровергнуто недавно опубликованной работой, согласно которой нокаут любого из генов *SCW CESA* (*PtiCESA4*, или *PtiCESA7A/B*, или *PtiCESA8A/B*) приводит к тому, что в ксилемных и флоэмных

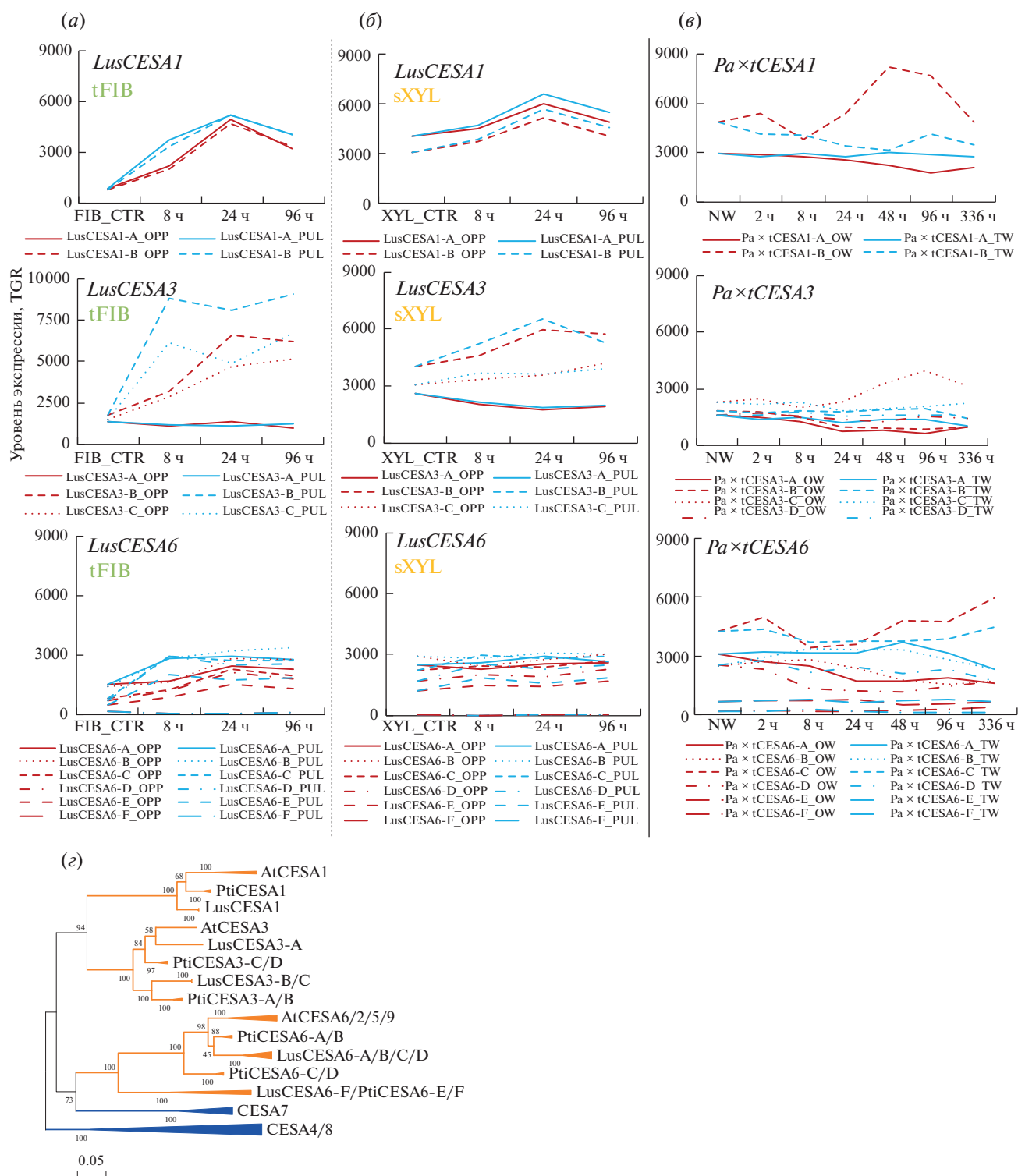


Рис. 6. Экспрессия генов *PCW CESA* в изолированных волокнах льна (а), в ксилемной части стебля льна (б) и в древесине тополя (OW, TW) (в) в ходе гравитовета. В качестве первой точки приведены данные для контрольных растений, которые не подвергались гравитостимуляции; (г) – филогенетическое древо *CESA* резуховидки, тополя (*P. trichocarpa*) и льна. Построено для аминокислотных последовательностей *CESA* (Mokshina et al., 2014) с помощью программы MEGA7 (Maximum Likelihood метод, модель JTT+G). Клады, несущие изоформы *PCW CESA* (оранжевый), объединены; клады для изоформ *SCW CESA* (синий) объединены для разных растений.

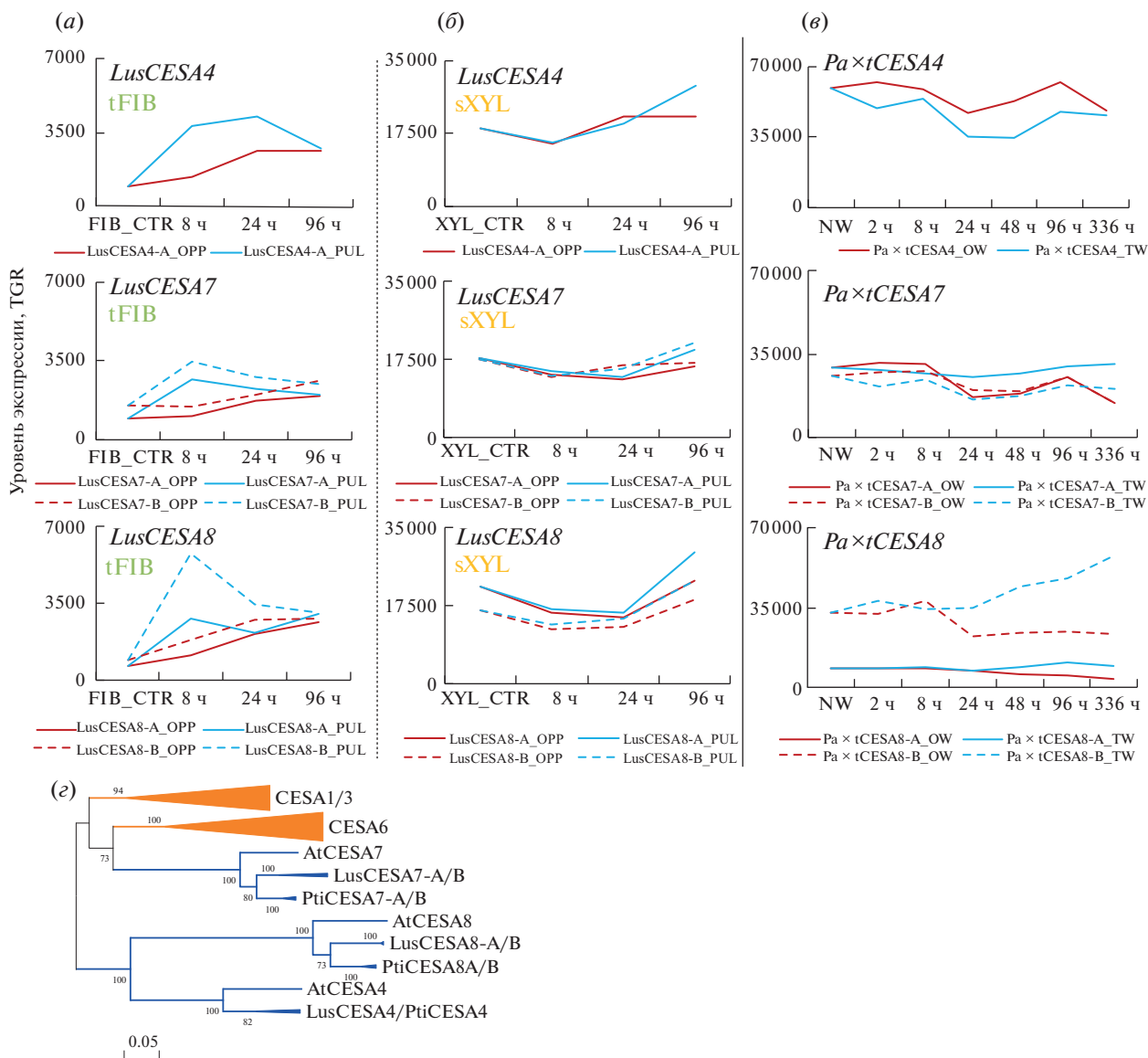


Рис. 7. Экспрессия генов *SCW CESA* в изолированных волокнах льна (а), в ксилемной части стебля льна (б) и в древесине тополя (OW, TW) (в) в ходе гравитответа. В качестве первой точки приведены данные для контрольных растений, которые не подвергались гравитимуляции; (д) – филогенетическое древо CESA резуховидки, тополя (*P. trichocarpa*) и льна. Построено для аминокислотных последовательностей CESA (Mokshina et al., 2014) с помощью программы MEGA7 (Maximum Likelihood метод, модель JTT+G). Клады, несущие изоформы SCW CESA (синий), объединены; клады для изоформ PCW CESA (оранжевый) объединены для разных растений.

волокнах гравитимулированных растений тополя не формируется третичная клеточная стенка [28].

В экспериментальных работах, посвященных функционированию целлюлозосинтазных комплексов, периодически возникает вопрос о стехиометрии входящих в них изоформ. Принято считать, что SCW CESA в комплексах находятся в эквимолярных соотношениях, т.е. 1 : 1 : 1 для CESA4, 7, 8, как показано при отложении вторичных стенок в ксилеме резуховидки (*A. thaliana*) [29] и древеси-

не ели обыкновенной (*Picea abies*) [26]. Стехиометрия изоформ CESA1, 3, 6 при формировании первичной клеточной стенки резуховидки также определена как эквимолярная, т.е. 1 : 1 : 1 [30]. Однако в древесине осины (*P. tremula*), как установлено при масс-спектрометрическом анализе представленности пептидных фрагментов, специфичных для конкретных изоформ, соотношение SCW CESA составляет 3 : 2 : 1 (PtaCESA8a/b : PtaCESA4 : PtaCESA7a/b), причем в древесине натяжения оно меняется на 8 : 3 : 1 [26].

Судя по нашим данным, полученным при анализе динамики уровня мРНК соответствующих генов, стехиометрия как PCW, так и SCW CESA подвижна и может различаться, т.к. не все изоформы активируются в равной степени. Например, *LusCESA3-B* и *LusCESA3-C* активируются в большей степени во флоэмных волокнах с тянущей стороны. Также остается открытым вопрос о том, различается ли стехиометрия CESA в волокнах различного происхождения (флоэмные и ксилемные).

Вопрос о стехиометрии изоформ связан с вопросом их функциональных различий, в частности с характером расположения изоформ в комплексе, их взаимодействия между собой и другими вспомогательными белками. Анализ функциональных особенностей SCW CESA показал отличия в сайт-специфичности при белковых взаимодействиях, что может обуславливаться их положением в комплексе. Так, показано, что CESA7 имеет наибольшую сайт-специфичность, и положение этого белка наиболее критично для функционирования всего комплекса, тогда как CESA8, напротив, в наименьшей степени обладает специфичностью при взаимодействии с другими белками [31]. Интересно, что именно целлюлозосинтаза AtCESA7 способна частично восстанавливать биосинтез целлюлозы первичной клеточной стенки при трансформации кодирующего ее гена в мутанты резуховидки *cesa3*, а целлюлозосинтаза AtCESA1 может частично восстановить биосинтез вторичной клеточной стенки у мутанта *cesa8ko* [7]. Кроме того, согласно филогенетическому анализу, клада генов, кодирующих CESA7, отличается от клад других SCW CESA (рис. 7e).

Таким образом, гравистимуляция приводит к активации экспрессии генов некоторых изоформ LusCESA, при этом во флоэмных волокнах льна подобная активация может быть с большой вероятностью ассоциирована с перестройками в третичной клеточной стенке волокна, а в ксилемных тканях и древесине натяжения активация CESA может быть связана с перестройками и биосинтетическими процессами в разных типах клеток. В целом полученные данные свидетельствуют об особенностях набора различных изоформ целлюлозосинтаз при формировании третичной клеточной стенки. На каких именно параметрах биосинтеза целлюлозы эти особенности сказываются, предстоит выяснить в дальнейших исследованиях.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для оценки экспрессии генов CESA использовали нормализованные транскриптомные данные, размещенные в базе данных FIBexDB, подбаза

транскриптомов льна (<https://ssl.cres-t.org/fibex/flax/>, [23]). Для растений льна транскриптомные данные (в двух повторностях) были получены нами ранее для изолированных волокон и ксилемной части стебля прямостоячих растений (tFIBb, sXYL), а также с тянущей (tFIBb_PUL, sXYLb_PUL) и противоположной стороны (tFIBb_OPP, sXYLb_OPP) стебля в ходе развития гравитропической реакции (через 8, 24, 96 ч после наклона) (номер проекта в NCBI PRJNA631357) (табл. 1). Транскриптомные данные были верифицированы с помощью количественной ПЦР путем попарного сравнения экспрессии некоторых изоформ LusCESA, а также генов других белков, в волокнах на разных сторонах стебля и с волокнами контрольных растений [24]. Аннотация генов целлюлозосинтаз была проведена согласно работе Mokshina et al. [14].

Для древесины тополя использовали транскриптомные данные эксперимента [25] (номер проекта в NCBI PRJNA398515), размещенные в FIBexDB, подбаза транскриптомов тополя (<https://ssl.cres-t.org/fibex/poplar/>, [23]). Zinkgraf et al. [25] наклоняли 6-месячные растения тополя (*P. alba* × *tremula* INRA 717-1B4) до горизонтального положения и отбирали образцы из участка стебля 20–40 междоузлия после удаления коры через 2, 8, 24, 48, 96 и 336 ч гравистимуляции, собирая ксилемную часть лезвием с соответствующих сторон (TW, OW) (табл. 1); далее проводили RNA-seq-анализ [25]. Аннотация генов CESA тополя проведена нами на основе работы Kumar et al. [19] и с помощью сервиса Popgenie (<https://popgenie.org/>) (табл. 2). Согласно номенклатуре, предложенной в работе Kumar et al. [19], в префиксе генов CESA *P. trichocarpa* сокращается до *Pti*, *P. tremula* — до *Pta*, *P. canescens* (*alba* × *tremula*) — до *Pa* × *t*. Для генов льна и тополя указан ID согласно базе данных Phytosome (<https://phytosome-next.jgi.doe.gov/>), в которой в качестве префиксов для обозначения генов льна и тополя используются Lus и Potri соответственно.

Кластеризацию проводили с помощью опций базы данных FIBexDB: список номеров генов помещали в окно “search by multiple queries”. После вывода на экран данных экспрессии для выбранных генов и образцов выбирали алгоритм для кластеризации k-means (Cluster3) (число кластеров — 4), Pearson correlation.

Построение филогенетического древа на основе аминокислотных последовательностей CESA льна (*L. usitatissimum*), тополя (*P. trichocarpa*) и резуховидки (*A. thaliana*) [14] проводили с помощью программы MEGA7 (Maximum Likelihood метод, модель JTT+G).

Таблица 1. Описание образцов, транскриптомные данные которых были использованы в работе

№	Название образца	Растение	Описание	Ссылка
1	tFIBb	<i>L. usitatissimum</i>	Изолированные волокна с третичной клеточной стенкой (tFIBb). Нижняя часть стебля, 5 см, без наклона	[32]
2	tFIBb_PUL8/24/96	<i>L. usitatissimum</i>	Изолированные волокна с третичной клеточной стенкой с тянущей стороны (PUL) стебля через 8, 24 и 96 ч после наклона	[21, 24]
3	tFIBb_OPP8/24/96	<i>L. usitatissimum</i>	Изолированные волокна с третичной клеточной стенкой (tFIB) с противоположной стороны (OPP) стебля через 8, 24 и 96 ч после наклона	[21, 24]
4	sXYLb	<i>L. usitatissimum</i>	Ксилемная часть стебля с вторичной клеточной стенкой (sXYL). Нижняя часть стебля, 5 см, без наклона	[32]
5	sXYLb_PUL8/24/96	<i>L. usitatissimum</i>	Ксилемная часть стебля с вторичной клеточной стенкой (sXYL) с тянущей стороны (PUL) стебля через 8, 24 и 96 ч после наклона	[21, 24]
6	sXYLb_OPP8/24/96	<i>L. usitatissimum</i>	Ксилемная часть стебля с вторичной клеточной стенкой (sXYL) с противоположной стороны (OPP) стебля через 8, 24 и 96 ч после наклона	[21, 24]
7	NW_0	<i>P. alba</i> × <i>tremula</i>	Нормальная древесина, без наклона	[25]
8	TW_2/8/24/48/96/336	<i>P. alba</i> × <i>tremula</i>	Древесина натяжения после 2, 8, 24, 48, 96 и 336 ч гравистимуляции	[25]
9	OW_2/8/24/48/96/336	<i>P. alba</i> × <i>tremula</i>	Древесина с противоположной стороны после 2, 8, 24, 48, 96 и 336 ч гравистимуляции	[25]

Таблица 2. Номера генов *CESA* и их сокращения

Ген льна (Phytozome)	Название гена	Ген тополя (Phytozome)	Название гена*
<i>PCW CESA</i>			
<i>Lus10018902</i>	<i>LusCESA1-A</i>	<i>Potri.018G029400</i>	<i>PtiCESA1-A/Pa</i> × <i>tCESA1-A</i>
<i>Lus10028597</i>	<i>LusCESA1-B</i>	<i>Potri.006G251900</i>	<i>PtiCESA1-B/Pa</i> × <i>tCESA1-B</i>
<i>Lus10039607</i>	<i>LusCESA3-A</i>	<i>Potri.006G052600</i>	<i>PtiCESA3-A/Pa</i> × <i>tCESA3-A</i>
<i>Lus10007538</i>	<i>LusCESA3-B</i>	<i>Potri.016G054900</i>	<i>PtiCESA3-B/Pa</i> × <i>tCESA3-B</i>
<i>Lus10012198</i>	<i>LusCESA3-C</i>	<i>Potri.009G060800</i>	<i>PtiCESA3-C/Pa</i> × <i>tCESA3-C</i>
		<i>Potri.001G266400</i>	<i>PtiCESA3-D/Pa</i> × <i>tCESA3-D</i>
<i>Lus10006161</i>	<i>LusCESA6-A</i>	<i>Potri.005G087500</i>	<i>PtiCESA6-A/Pa</i> × <i>tCESA6-A</i>
<i>Lus10041063</i>	<i>LusCESA6-B</i>	<i>Potri.007G076500</i>	<i>PtiCESA6-B/Pa</i> × <i>tCESA6-B</i>
<i>Lus10003526</i>	<i>LusCESA6-C</i>	<i>Potri.005G194200</i>	<i>PtiCESA6-C/Pa</i> × <i>tCESA6-C</i>
<i>Lus10002939</i>	<i>LusCESA6-D</i>	<i>Potri.002G066600</i>	<i>PtiCESA6-D/Pa</i> × <i>tCESA6-D</i>
<i>Lus10002940</i>	<i>LusCESA6-E</i>	<i>Potri.013G019800</i>	<i>PtiCESA6-E/Pa</i> × <i>tCESA6-E</i>
<i>Lus10022449</i>	<i>LusCESA6-F</i>	<i>Potri.005G027600</i>	<i>PtiCESA6-F/Pa</i> × <i>tCESA6-F</i>
<i>SCW CESA</i>			
<i>Lus10008226</i>	<i>LusCESA4</i>	<i>Potri.002G257900</i>	<i>PtiCESA4/Pa</i> × <i>tCESA4</i>
<i>Lus10043485</i>	<i>LusCESA7-A</i>	<i>Potri.006G181900</i>	<i>PtiCESA7-A/Pa</i> × <i>tCESA7-A</i>
<i>Lus10043486</i>	<i>LusCESA7-B</i>	<i>Potri.018G103900</i>	<i>PtiCESA7-B/Pa</i> × <i>tCESA7-B</i>
<i>Lus10007296</i>	<i>LusCESA8-A</i>	<i>Potri.011G069600</i>	<i>PtiCESA8-A/Pa</i> × <i>tCESA8-A</i>
<i>Lus10029245</i>	<i>LusCESA8-B</i>	<i>Potri.004G059600</i>	<i>PtiCESA8-B/Pa</i> × <i>tCESA8-B</i>

* Поскольку при анализе транскриптомов *P. alba* × *tremula* использовали геном *P. trichocarpa* в качестве референсного [25], названия генов *PtiCESA* и *Pa*×*tCESA* совпадают.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что гравистимуляция вызывает перестройки в клеточной стенке флоэмных волокон льна (*L. usitatissimum*), которые сопровождаются кратковременной активацией биосинтетических процессов на ранних стадиях гравитовета с участием различных изоформ целлюлозосинтаз. В ксилемной части стебля льна гравистимуляция приводит к индукции образования третичной клеточной стенки в ксилемных волокнах, что сопровождается постепенным увеличением экспрессии генов целлюлозосинтаз, вовлеченных в формирование вторичной клеточной стенки (SCW LusCESA). Гравистимуляция древесины тополя (*Populus* sp.) также сопровождается активацией некоторых генов *PCW* и *SCW Pa*×*tCESA* в древесине натяжения. Активация экспрессии некоторых генов *PCW Pa*×*tCESA* и подавление экспрессии других генов *PCW Pa*×*tCESA* отмечались в древесине, расположенной на противоположной от древесины натяжения стороне стебля. Особую роль в гравитовете у различных систем (флоэмные волокна, древесина натяжения) может играть CESA8-B, поскольку увеличение экспрессии гена этой изоформы было продемонстрировано как для древесины натяжения, так и для флоэмных волокон с тянущей стороны стебля льна. Стехиометрия SCW CESA в волокнах льна и древесины натяжения тополя может быть сходной, а стехиометрия PCW CESA предположительно не эквивалентная.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Надежде Николаевне Ибрагимовой, с.н.с. лаборатории гликобиологии растений Казанского института биохимии и биофизики – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН, за участие в разработке подходов по изучению гравитовета растений льна.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 20-44-07005, работа с транскриптомной базой данных FIVexDB; грант 19-14-00361, биоинформатический анализ экспрессии генов *CESA* льна).

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ Казанского научного центра РАН (построение филогенетических деревьев).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей и использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nixon B.T., Mansouri K., Singh A., Du J., Davis J.K., Lee J.-G., Slabaugh E., Vandavasi V.G., O'Neill H., Roberts E.M., Roberts A.W., Yingling Y.G., Haigler C.H. // Sci. Rep. 2016. V. 6. P. 28696. <https://doi.org/10.1038/srep28696>
2. Purushotham P., Ho R., Zimmer J. // Sci. 2020. V. 369. P. 1089–1094. <https://doi.org/10.1126/science.abb2978>
3. Richmond T.A., Somerville C.R. // Plant Physiol. 2000. V. 124. P. 495–498. <https://doi.org/10.1104/pp.124.2.495>
4. Doblin M.S., Kureck I., Jacob-Wilk D., Delmer D.P. // Plant Cell Physiol. 2002. V. 43. P. 1407–1420. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcf164>
5. Kumar M., Turner S. // Phytochem. 2015. V. 112. P. 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.07.009>
6. Hématy K., Höfte H. // In: Plant Cell Monographs / Ed. Verbelen J.-P., Vissenberg K. Springer Verlag, 2006. V. 6. P. 33–56. <https://ur.booksc.me/book/11611855/c97d70>
7. Carroll A., Mansoori N., Li S.D., Lei L., Vernhettes S., Visser R.G.F., Somerville C., Gu Y., Trindade L.M. // Plant Physiol. 2012. V. 160. P. 726–737. <https://doi.org/10.1104/pp.112.199208>
8. Watanabe Y., Schneider R., Barkwill S., Gonzales-Vigil E., Hill J.L., Jr., Samuels A.L., Persson S., Mansfield S.D. // PNAS. 2018. V. 115. P. E6366–E6374.
9. Song D., Shen J., Li L. // New Phytol. 2010. V. 187. P. 777–790. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03315.x>
10. Gorshkova T., Chernova T., Mokshina N., Ageeva M., Mikshina P. // New Phytol. 2018. V. 218. P. 66–72. <https://doi.org/10.1111/nph.14997>
11. Gorshkova T., Brutch N., Chabbert B., Deyholos M., Hayashi T., Lev-Yadun S., Mellerowicz E.J., Morvan C., Neutelings G., Pilate G. // Critic. Rev. Plant Sci. 2012. V. 31. P. 201–228. <https://doi.org/10.1080/07352689.2011.616096>
12. Guedes F.T.P., Laurans F., Quemener B., Assor C., Lainé-Prade V., Boizot N., Vigouroux J., Lesage-Descauses M.-C., Leplé J.-C., Déjardin A., Pilate G. // Planta. 2017. V. 246. P. 857–878. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2737-1>
13. Горшкова Т.А., Гурьянов О.П., Мокшина П.В., Ибрагимова Н.Н., Мокшина Н.Е., Сальников В.В., Агеева М.В., Аменицкий С.И., Чернова Т.Е., Чемикосова С.Б. // Физиология растений. 2010. Т. 57. № 3. С. 328–341.
14. Mokshina N., Gorshkova T., Deyholos M.K. // PLoS One. 2014. V. 9. P. e97949. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097949>
15. Wang Z., Hobson N., Galindo L., Zhu S., Shi D., McDill J., Yang L., Hawkins S., Neutelings G., Datla R., Lambert G., Galbraith D.W., Grassa C.J., Gerald A., Cronk Q.C.,

- Cullis C., Dash P.K., Kumar P.A., Cloutier S., Sharpe A.G., Wong G.K., Wang J., Deyholos M.K. // *Plant J.* 2012. V. 72. P. 461–473.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.05093.x>
16. Mokshina N., Gorshkov O., Ibragimova N., Chernova T., Gorshkova T. // *Function. Plant Biol.* 2017. V. 44. P. 820–831.
<https://doi.org/10.1071/FP17105>
 17. Clair B., Dejardin A., Pilate G., Alm eras T. // *Front. Plant Sci.* 2018. V. 9. P. 623.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00623>
 18. Gorshkova T., Mokshina N., Chernova T., Ibragimova N., Salnikov V., Mikshina P., Tryfona T., Banasiak A., Immerzeel P., Dupree P., Mellerowicz E.J. // *Plant Physiol.* 2015. V. 169. P. 2048–2063.
<https://doi.org/10.1104/pp.15.00690>
 19. Kumar M., Thammannagowda S., Bulone V., Chiang V., Han K.H., Joshi C.P., Mansfield S.D., Mellerowicz E., Sundberg B., Teeri T., Ellis B.E. // *Trends Plant Sci.* 2009. V. 14. P. 248–254.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.02.004>
 20. Ibragimova N.N., Ageeva M.V., Gorshkova T.A. // *Protoplasma.* 2017. V. 254. P. 749–762.
<https://doi.org/10.1007/s00709-016-0985-8>
 21. Petrova A., Kozlova L., Gorshkov O., Nazipova A., Ageeva M., Gorshkova T. // *Front. Plant Sci.* 2021. V. 12. P. 660375.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.660375>
 22. Ibragimova N., Mokshina N., Ageeva M., Gurjanov O., Mikshina P. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 5322.
<https://doi.org/10.3390/ijms21155322>
 23. Mokshina N., Gorshkov O., Takasaki H., Onodera H., Sakamoto S., Gorshkova T., Mitsuda N. // *New Phytol.* 2021. V. 231. P. 512–515.
<https://doi.org/10.1111/nph.17405>
 24. Gorshkov O., Mokshina N., Ibragimova N., Ageeva M., Gogoleva N., Gorshkova T. // *Funct. Plant Biol.* 2017. V. 45. P. 203–214.
<https://doi.org/10.1071/FP16348>
 25. Zinkgraf M., Gertula S., Zhao S., Filkov V., Groover A. // *J. Integr. Plant Biol.* 2018. V. 60. P. 578–590.
<https://doi.org/10.1111/jipb.12645>
 26. Zhang X., Dominguez P.G., Kumar M., Bygdell J., Miroshnichenko S., Sundberg B., Wingsle G., Niittyl  T. // *Plant Physiol.* 2018. V. 177. P. 1096–1107.
<https://doi.org/10.1104/pp.18.00394>
 27. Liu L., Missirian V., Zinkgraf M., Groover A., Filkov V. // *BMC Genomics.* 2014. V. 15.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-S5-S3>
 28. Xu W., Cheng H., Zhu S., Cheng J., Ji H., Zhang B., Cao S., Wang C., Tong G., Zhen C., Mu L., Zhou Y., Cheng Y. // *New Phytol.* 2021. V. 231. P. 1478–1495.
<https://doi.org/10.1111/nph.17338>
 29. Hill J.L., Jr., Hammudi M.B., Tien M. // *Plant Cell.* 2014. V. 26. P. 4834–4842.
<https://doi.org/10.1105/tpc.114.131193>
 30. Gonneau M., Desprez T., Guillot A., Vernhettes S., H fte H. // *Plant Physiol.* 2014. V. 166. P. 1709–1712.
<https://doi.org/10.1104/pp.114.250159>
 31. Kumar M., Atanassov I., Turner S. // *Plant Physiol.* 2017. V. 173. P. 970–983.
<https://doi.org/10.1104/pp.16.01642>
 32. Mokshina N., Gorshkov O., Galinousky D., Gorshkova T. // *Ind. Crop. Prod.* 2020. V. 152. P. 112549.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112549>

Expression of Cellulose Synthase Genes during the Gravistimulation of Flax (*Linum usitatissimum*) and Poplar (*Populus alba* × *tremula*) Plants

N. E. Mokshina*, **, #, P. V. Mikshina*, and T. A. Gorshkova*

*Phone: +7(843)231-90-39; e-mail: ne_mokshina@kibb.knc.ru

*Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, ul. Lobachevskogo 2/31, Kazan, 420111 Russia

**Kazan Federal University, ul. Kremleovskaya 18, Kazan, 420008 Russia

Plant cellulose is synthesized on the plasma membrane by the cellulose synthase complex and a number of coenzymes. Different cellulose synthases are thought to be involved in the primary and secondary cell wall biosynthesis. Plant fibers, such as flax phloem fibers and xylem fibers of poplar tension wood, produce a tertiary cell wall with increased cellulose content and a lack of xylan and lignin. The composition and types of cellulose synthase complexes involved in the tertiary cell wall biosynthesis have not yet been established. Based on transcriptome data for flax (*Linum usitatissimum*) and poplar (*Populus alba* × *tremula*) plants, we evaluated the expression of genes encoding cellulose synthases during the development of a gravitropic response with the participation of the phloem and/or xylem fibers producing the tertiary cell wall. Changes in the expression of cellulose synthase genes characteristic of both primary and secondary cell walls in various model systems indicate the mobility of an ensemble of different cellulose synthases during the gravistimulation, which can affect both an individual cell type and a set of tissues with different types of cell walls. For the isolated flax phloem fibers, the involvement of both types of cellulose synthases in the formation of the tertiary cell wall at all stages of graviresponse was demonstrated.

Keywords: cellulose synthases, tertiary cell wall, plant fibers, transcriptome analysis