

ПРИЛОЖЕНИЕ

к статье Е.В. Шруб, А.В. Колубако, П.В. Вычика, О.А. Бадалян, Е.А. Николайчика
«Рецепторподобные киназы с лейцин-богатыми повторами подсемейства III
участвуют в распознавании *Pectobacterium* spp. растениями семейства Solanaceae»

Таблица S1. Олигонуклеотиды для ОТ-кПЦР

Ген	Последовательность	Продукт
<i>nbEF1a</i>	5'-ttcttgaggctcttgaccagatc-3' 5'-ctgggtcatccttgagtttg-3'	Фактор элонгации
<i>CAC</i>	5'-cctccgttgatgtaactgg-3' 5'-attggtggaaagtaacatcatcg-3'	Компонент клатрин-адапторного комплекса
<i>TBP</i>	5'-ggagccaaaagtgaacaacag-3' 5'-cgtaacttgagaaagcacctg-3'	ТАТА-связывающий белок
<i>PR-1a</i>	5'-gcagatgtaggtgtagaacctttg-3' 5'-aaatgccacttccctcagc-3'	PR белок с неизвестной функцией
<i>PR-3a</i>	5'-ttttctggatcaccactgacattg-3' 5'-agcatctcgttgacaagtcattc-3'	Хитиназа
<i>RLK2</i>	5'-accgggttctttgtggttctcc-3' 5'-ggactagcggatgttggtgcac-3'	Рецепторподобная киназа
<i>RLK5</i>	5'-tggaattgttggtgatctgtagtg-3' 5'-atatgaaccacatcaacagacct-3'	Рецепторподобная киназа
<i>FLS2</i>	5'-tctcaggccatgcagcatca-3' 5'-tcccaacgcgagaagaatgaga-3'	Рецепторная киназа
<i>COI1</i>	5'-tggcgaagggatgccttgaa-3' 5'-gtcgagcaaaaccagccgaaa-3'	«Коронатин-нечувствительный» белок
<i>WAK1</i>	5'-gagctagaagccgggttgct-3' 5'-tgttcgagaccacagtga-3'	Связанная с клеточной стенкой киназа 1
<i>nbJAZ3</i>	5'-cggcagataaagctaaggaaatc-3' 5'-cgattggtaaatctcagaaataatagg-3'	Негативный регулятор жасмонат-зависимых генов
<i>SAND</i>	5'-ttgcttgaggagaacagacg-3' 5'-gcaaacaggaccctgaatc-3'	Белок с неизвестной функцией
<i>stEF1A</i>	5'-ttgatgctcttgaccagattaacg-3' 5'-acgggcacagttccaatacc-3'	Фактор элонгации
<i>PR1A</i>	5'-gggagaagccaaactacaactatg-3' 5'-ttgatgaaatgaaccacatcc-3'	PR белок с неизвестной функцией
<i>PR3</i>	5'-aataagccatcatgccacaacg-3' 5'-gcagtattcggacccatccc-3'	Хитиназа
<i>stJAZ</i>	5'-atcggaaccggaaaaggcac-3' 5'-aagggtacttttgagtcagcct-3'	Негативный регулятор жасмонат-зависимых генов
<i>RLK6</i>	5'-gtagggtcggggaagaagga-3' 5'-tgcagcaacactaccctcact-3'	Рецепторподобная киназа

Таблица S2. Функциональная характеристика экспериментально исследованных LRR-RLKIII

Ген	Кластер	Роль продукта гена	Литературный источник
<i>atIMK2</i>	I	Устойчивость к осмотическому стрессу	Vu et al., 2020
<i>atIMK3</i>	I	Устойчивость к солевому и/или осмотическому стрессу	ten Hove et al., 2011a
<i>atARLPK1, atARLPK2</i>	II	Псевдокиназы, негативные регуляторы иммунного ответа при бактериозе	Niu et al., 2016
<i>atTMKL1</i>	II	Функции не определены. Транскрипционно активен в различных органах и во время созревания стручков	Valon et al., 1993
<i>atRDK1</i>	III	Регулирует передачу сигналов абиотического стресса и АБК-опосредованного раннего развития проростков	Kumar et al., 2017
<i>atSENK1</i>	III	Негативный регулятор старения листьев у <i>Arabidopsis</i>	Wang Q. et al., 2023
<i>atZAR1</i>	III	Регулятор ассиметричного деления зиготы, контроль судьбы дочерних клеток	Yu et al., 2016
<i>atGHR1</i>	IV	Регулирует движение устьиц посредством активации анионных каналов SLAC1 под воздействием АБК, АФК и высоких концентраций CO ₂	Hua et al., 2012; Sierla et al., 2018
<i>atSIRK1</i>	IV	Регулятор осмотического ответа	Wu et al., 2013
<i>atPRK1, atPRK2, atPRK3, atPRK4, atPRK5, atPRK6, atPRK7, atPRK8</i>	V	Прорастание пыльцевой трубки	Takeuchi, Higashiyama, 2016
<i>zmWIP4, zmWIP3</i>	VI	Контроль развития эмбриональных корней. Регуляция плотности устьиц. Взаимодействие с эффектором WtsE <i>Pantoea stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i> из AvrE-семейства	Jin et al., 2016; Diaz-Ramirez et al., 2022; Du et al., 2022
<i>atAT1G60630</i>	VI	Дифференцировка замыкающих клеток и развитие устьиц	Paul, Srinivasan, 2020
<i>mdDIPM3</i>	VI	Слабое взаимодействие с эффектором DspA/E <i>Erwinia amylovora</i>	Meng et al., 2006
<i>mdDIPM1</i>	VI	Взаимодействие с бактериальным эффектором DspA/E <i>E. amylovora</i>	Meng et al., 2006
<i>atPXC1</i>	VII	Развитие сосудов и образование вторичной клеточной стенки в волокнах ксилемы	Wang J. et al., 2013
<i>mdDIPM2</i>	VII	Взаимодействие с эффектором DspA/E <i>E. amylovora</i>	Meng et al., 2006
<i>mdDIPM4</i>	VII	Взаимодействие с DspA/E <i>E. amylovora</i> . Нокаут <i>mdDIPM4</i> ослаблял симптомы бактериального ожога	Meng et al., 2006; Pompili et al., 2020
<i>nbRLK2</i>	VII	S-ген по отношению к <i>P. versatilis</i> . Сайленсинг <i>nbRLK2</i> блокирует развитие реакции сверхчувствительности <i>N. benthamiana</i> , индуцируемой <i>P. versatilis</i>	Бадалян, Николайчик, 2014
<i>atRUL1</i>	VIII	Негативный регулятор вторичного роста стебля	Agusti et al., 2011
<i>atKOIN</i>	VIII	Контроль деления корневых клеток	Rodriguez-Furlan et al., 2022
<i>atAT5G24100</i>	VIII	Экспрессируется в корнях, задействован в сигнальных цепях индуцируемых абиотическим стрессом	Lin et al., 2011; Han et al., 2015
<i>slTARK1</i>	IX	Регулирует движение устьиц под действием бактерий и биотических элиситоров. Взаимодействует с эффекторным белком ХорN <i>Xanthomonas campestris</i> . S-ген по отношению к <i>Pseudomonas syringae</i> . Растения со сверхэкспрессией <i>TARK1</i> чувствительны к бактериальной инвазии <i>P. syringae</i>	Kim et al., 2009; Guzman et al., 2020
<i>atQSK1</i>	IX	Развитие боковых корней. Ответ на осмотический стресс, контроль аквапоринов	Grison et al., 2019
<i>atLRR1</i>	IX	Толерантность к засухе. Участвует в регуляции взаимодействий между <i>A. thaliana</i> и полезным эндофитом <i>Piriformospora indica</i> . Ортолог перца отвечает за запуск клеточной гибели при иммунном ответе	Sherameti et al., 2008; Choi et al., 2012; Chen et al., 2021

Окончание табл. S2

Ген	Кластер	Роль продукта гена	Литературный источник
<i>zmWIP5</i>	IX	Определение судьбы дистальных стволовых клеток в корневых меристемах. Взаимодействие с бактериальным эффектором WtsE <i>Pantoea stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i>	Jin et al., 2016; Diaz-Ramirez et al., 2022; Du et al., 2022
<i>atRLK1</i>	IX	Контроль роста корня и иммунного ответа при внедрении <i>Ralstonia solanacearum</i>	Tarutani et al., 2004b; ten Hove et al., 2011b; Demirjian et al., 2022
<i>atRLK902</i>	IX	Активатор роста корней и устойчивости к ложной мучнистой росе, вызываемой <i>Hyaloperonospora arabidopsidis</i> . Активатор иммунитета против <i>P. syringae</i>	Tarutani et al., 2004a; ten Hove et al., 2011a, b; Zhao et al., 2019
<i>nbEIR1</i>	IX	S-ген по отношению к <i>P. versatile</i> . Сайленсинг <i>nbEIR1</i> блокирует реакцию сверхчувствительности <i>N. benthamiana</i> , индуцируемой <i>P. versatile</i> . Активатор INF1-индуцированной устойчивости к оомицетам	Бадалян, Николайчик, 2014; Zhang et al., 2023

Список литературы / References

Бадалян О.А., Николайчик Е.А. Рецепторподобные киназы RLK2 и RLK5 *Nicotiana benthamiana* участвуют в регуляции экспрессии генов ключевых компонентов иммунной системы растения при контакте с *Pectobacterium carotovorum*. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук*. 2014;4:75-80
[Badalyan O.A., Nikolaichik Y.A. Receptor-like kinases RLK2 and RLK5 of *Nicotiana benthamiana* are involved in regulation of gene expression of key plant immune system components during the contact with *Pectobacterium carotovorum*. *Izvestiya NAN Belarusi. Seriya Biologicheskikh Nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological Series*. 2014;4:75-80 (in Russian)]

Agusti J., Lichtenberger R., Schwarz M., Nehlin L., Greb T. Characterization of transcriptome remodeling during cambium formation identifies MOL1 and RUL1 as opposing regulators of secondary growth. *PLoS Genet*. 2011;7(2):e1001312. doi 10.1371/journal.pgen.1001312

Chen X., Wang T., Rehman A.U., Wang Y., Qi J., Li Z., Song C., Wang B., Yang S., Gong Z. Arabidopsis U-box E3 ubiquitin ligase PUB11 negatively regulates drought tolerance by degrading the receptor-like protein kinases LRR1 and KIN7. *J Integr Plant Biol*. 2021;63(3):494-509. doi 10.1111/jipb.13058

Choi D.S., Hwang I.S., Hwang B.K. Requirement of the cytosolic interaction between PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN10 and LEUCINE-RICH REPEAT PROTEIN1 for cell death and defense signaling in pepper. *Plant Cell*. 2012;24(4):1675-1690. doi 10.1105/tpc.112.095869

Demirjian C., Razavi N., Desaint H., Lonjon F., Genin S., Roux F., Berthomé R., Vailleau F. Study of natural diversity in response to a key pathogenicity regulator of *Ralstonia solanacearum* reveals new susceptibility genes in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant Pathol*. 2022;23(3):321-338. doi 10.1111/mpp.13135

Diaz-Ramirez D., Diaz-Garcia U.S., Magdaleno-Garcia G., Huep G., Appelhagen I., Sagasser M., Marsch-Martinez N. Expression and functional analyses of the WIP gene family in Arabidopsis. *Plants*. 2022;11(15):2010. doi 10.3390/plants11152010

Du Y., Roldan M.V.G., Haraghi A., Haili N., Ishaq F., Verdenaud M., Boualem A., Bendahmane A. Spatially expressed WIP genes control *Arabidopsis* embryonic root development. *Nat Plants*. 2022;8(6):635-645. doi 10.1038/s41477-022-01172-4

Grisson M.S., Kirk P., Brault M.L., Wu X.N., Schulze W.X., Benitez-Alfonso Y., Immel F., Bayer E.M. Plasma membrane-associated receptor-like kinases relocate to plasmodesmata in response to osmotic stress. *Plant Physiol*. 2019;181(1):142-160. doi 10.1104/pp.19.00473

Guzman A.R., Kim J.-G., Taylor K.W., Lanver D., Mudgett M.B. Tomato atypical receptor kinase1 is involved in the regulation of preinvasion defense. *Plant Physiol*. 2020;183(3):1306-1318. doi 10.1104/pp.19.01400

Han L., Li J.L., Jin M., Su Y.H. Transcriptome analysis of *Arabidopsis* seedlings responses to high concentrations of glucose. *Genet Mol Res*. 2015;14(2):4784-4801. doi 10.4238/2015.May.11.11

Hua D., Wang C., He J., Liao H., Duan Y., Zhu Z., Guo Y., Chen Z., Gong Z. A plasma membrane receptor kinase, GHR1, mediates abscisic acid- and hydrogen peroxide-regulated stomatal movement in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 2012;24(6):2546-2561. doi 10.1105/tpc.112.100107

Jin L., Ham J.H., Hage R., Zhao W., Soto-Hernández J., Lee S.Y., Paek S.-M., Kim M.G., Boone C., Coplin D.L., Mackey D. Direct and indirect targeting of PP2A by conserved bacterial type-III effector proteins. *PLoS Pathog*. 2016;12(5):e1005609. doi 10.1371/journal.ppat.1005609

Kim J.-G., Li X., Roden J.A., Taylor K.W., Aakre C.D., Su B., Lalonde S., Kirik A., Chen Y., Baranage G., McLane H., Martin G.B., Mudgett M.B. *Xanthomonas* T3S effector XopN suppresses PAMP-triggered immunity and interacts with a tomato atypical receptor-like kinase and TGT1. *Plant Cell*. 2009;21(4):1305-1323. doi 10.1105/tpc.108.063123

Kumar D., Kumar R., Baek D., Hyun T.-K., Chung W.S., Yun D.-J., Kim J.-Y. *Arabidopsis thaliana* RECEPTOR DEAD KINASE1 functions as a positive regulator in plant responses to ABA. *Mol Plant*. 2017;10(2):223-243. doi 10.1016/j.molp.2016.11.011

- Lin W.-D., Liao Y.-Y., Yang T.J.W., Pan C.-Y., Buckhout T.J., Schmidt W. Coexpression-based clustering of *Arabidopsis* root genes predicts functional modules in early phosphate deficiency signaling. *Plant Physiol.* 2011;155(3):1383-1402. doi 10.1104/pp.110.166520
- Meng X., Bonasera J.M., Kim J.F., Nissinen R.M., Beer S.V. Apple proteins that interact with DspA/E, a pathogenicity effector of *Erwinia amylovora*, the fire blight pathogen. *Mol Plant Microbe Interact.* 2006;19(1):53-61. doi 10.1094/MPMI-19-0053
- Niu D., Lii Y.E., Chellappan P., Lei L., Peralta K., Jiang C., Guo J., Coaker G., Jin H. miRNA863-3p sequentially targets negative immune regulator *ARLPKs* and positive regulator *SERRATE* upon bacterial infection. *Nat Commun.* 2016;7(1):11324. doi 10.1038/ncomms11324
- Paul A., Srinivasan N. Genome-wide and structural analyses of pseudokinases encoded in the genome of *Arabidopsis thaliana* provide functional insights. *Proteins.* 2020;88(12):1620-1638. doi 10.1002/prot.25981
- Pompili V., Dalla Costa L., Piazza S., Pindo M., Malnoy M. Reduced fire blight susceptibility in apple cultivars using a high-efficiency CRISPR/Cas9-FLP/FRT-based gene editing system. *Plant Biotechnol J.* 2020;18(3):845-858. doi 10.1111/pbi.13253
- Rodriguez-Furlan C., Campos R., Toth J.N., Van Norman J.M. Distinct mechanisms orchestrate the contra-polarity of IRK and KOIN, two LRR-receptor-kinases controlling root cell division. *Nat Commun.* 2022;13(1):235. doi 10.1038/s41467-021-27913-1
- Sherameti I., Venus Y., Drzewiecki C., Tripathi S., Dan V.M., Nitz I., Varma A., Grundler F.M., Oelmüller R. PYK10, a β -glucosidase located in the endoplasmatic reticulum, is crucial for the beneficial interaction between *Arabidopsis thaliana* and the endophytic fungus *Piriformospora indica*. *Plant J.* 2008;54(3):428-439. doi 10.1111/j.1365-313X.2008.03424.x
- Sierla M., Hörak H., Overmyer K., Waszczak C., Yarmolinsky D., Maierhofer T., Vainonen J.P., ... Auvinen P., Geiger D., Hedrich R., Kollist H., Kangasjärvi J. The receptor-like pseudokinase GHR1 is required for stomatal closure. *Plant Cell.* 2018;30(11):2813-2837. doi 10.1105/tpc.18.00441
- Takeuchi H., Higashiyama T. Tip-localized receptors control pollen tube growth and LURE sensing in *Arabidopsis*. *Nature.* 2016; 531(7593):245-248. doi 10.1038/nature17413
- Tarutani Y., Morimoto T., Sasaki A., Yasuda M., Nakashita H., Yoshida S., Yamaguchi I., Suzuki Y. Molecular characterization of two highly homologous receptor-like kinase genes, *RLK902* and *RKL1*, in *Arabidopsis thaliana*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004a; 68(9):1935-1941. doi 10.1271/bbb.68.1935
- Tarutani Y., Sasaki A., Yasuda M., Nakashita H., Yoshida S., Yamaguchi I., Suzuki Y. Identification of three clones which commonly interact with the kinase domains of highly homologous two receptor-like kinases, *RLK902* and *RKL1*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004b;68(12):2581-2587. doi 10.1271/bbb.68.2581
- ten Hove C.A., Bochanovits Z., Jansweijer V.M.A., Koning F.G., Berke L., Sanchez-Perez G.F., Scheres B., Heidstra R. Probing the roles of LRR RLK genes in *Arabidopsis thaliana* roots using a custom T-DNA insertion set. *Plant Mol Biol.* 2011a;76(1):69-83. doi 10.1007/s11103-011-9769-x
- ten Hove C.A., de Jong M., Lapin D., Andel A., Sanchez-Perez G.F., Tarutani Y., Suzuki Y., Heidstra R., van den Ackerveken G. Trans-repression of gene activity upstream of T-DNA tagged *RLK902* links *Arabidopsis* root growth inhibition and downy mildew resistance. *PLoS One.* 2011b; 6(4):e19028. doi 10.1371/journal.pone.0019028
- Valon C., Smalle J., Goodman H.M., Giraudat J. Characterization of an *Arabidopsis thaliana* gene (TMKL1) encoding a putative trans-membrane protein with an unusual kinase-like domain. *Plant Mol Biol.* 1993;23(2):415-421. doi 10.1007/BF00029017
- Vu M.H., Iswanto A.B.B., Lee J., Kim J.-Y. The role of plasmodesmata-associated receptor in plant development and environmental response. *Plants.* 2020;9(2):216. doi 10.3390/plants9020216
- Wang J., Kucukoglu M., Zhang L., Chen P., Decker D., Nilsson O., Jones B., Sandberg G., Zheng B. The *Arabidopsis* LRR-RLK, *PXCI*, is a regulator of secondary wall formation correlated with the TDIF-PXY/TDR-WOX4 signaling pathway. *BMC Plant Biol.* 2013;13(1):94. doi 10.1186/1471-2229-13-94
- Wang Q., Li X., Guo C., Wen L., Deng Z., Zhang Z., Li W., Liu T., Guo Y. Senescence-related receptor kinase 1 functions downstream of WRKY53 in regulating leaf senescence in *Arabidopsis*. *J Exp Bot.* 2023;74(17):5140-5152. doi 10.1093/jxb/erad240
- Wu X.N., Rodriguez C.S., Pertl-Obermeyer H., Obermeyer G., Schulze W.X. Sucrose-induced receptor kinase SIRK1 regulates a plasma membrane aquaporin in *Arabidopsis*. *Mol Cell Proteomics.* 2013;12(10):2856-2873. doi 10.1074/mcp.M113.029579
- Yu T.-Y., Shi D.-Q., Jia P.-F., Tang J., Li H.-J., Liu J., Yang W.-C. The *Arabidopsis* receptor kinase ZAR1 is required for zygote asymmetric division and its daughter cell fate. *PLoS Genet.* 2016;12(3):e1005933. doi 10.1371/journal.pgen.1005933
- Zhang Y., Yin Z., Pi L., Wang N., Wang J., Peng H., Dou D. A *Nicotiana benthamiana* receptor-like kinase regulates *Phytophthora* resistance by coupling with BAK1 to enhance elicitor-triggered immunity. *J Integr Plant Biol.* 2023;65(6):1553-1565. doi 10.1111/jipb.13458
- Zhao Y., Wu G., Shi H., Tang D. RECEPTOR-LIKE KINASE 902 associates with and phosphorylates BRASSINOSTEROID-SIGNALING KINASE1 to regulate plant immunity. *Mol Plant.* 2019;12(1):59-70. doi 10.1016/j.molp.2018.10.008