

Динамическая локализация фитаспазы арабидопсиса

Научный руководитель – Труслова Светлана Владимировна

Морозова Екатерина Анатольевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: katya-mm@inbox.ru

Протеолитические ферменты являются важными компонентами механизма программированной клеточной смерти (ПКС) как у животных, так и у растений. Среди протеаз растений, связанных с ПКС, выделяют фитаспазы. Это субтилизин-подобные протеазы, отличающиеся строгой аспарат-специфичной протеолитической активностью, что делает их похожими на каспазы животных [1]. Фитаспазы синтезируются в виде неактивного белка-предшественника, однако, в отличие от каспаз, они конститутивно и автокаталитически процессируются внутри клетки, и затем активный фермент секретруется в апопласт, межклеточное пространство [2].

Известно, что при индукции ПКС фитаспазы растений способны возвращаться внутрь клетки [2]. Недавно было также установлено, что ретроградный транспорт фитаспазы табака происходит с помощью клатрин-зависимого эндоцитоза [4].

У *Arabidopsis thaliana* имеется лишь одна фитаспаза, субтилизин-подобная протеаза SBT 3.8 (AtPhyt), в то время как у других растений фитаспаз может быть несколько. Недавно для AtPhyt была показана субстратная специфичность, характерная для фитаспаз, что позволяет назвать ее единственной фитаспазой арабидопсиса [3].

Целью данной работы являлось изучение динамики локализации AtPhyt при индукции ПКС в гомологичной системе - растениях арабидопсиса. Фитаспаза арабидопсиса, соединенная с красным флуоресцентным белком (AtPhyt-mRFP), была транзистентно продуцирована в проростках *A. thaliana*. Затем в растениях был индуцирован окислительный стресс посредством обработки ингибитором дыхательной цепи, антимицином А. Наблюдение за локализацией AtPhyt-mRFP осуществляли с помощью флуоресцентной микроскопии. При отсутствии стресса фитаспаза имела строго апопластную, внеклеточную, локализацию, тогда как в образцах, где был индуцирован стресс, происходило перемещение фитаспазы внутрь клеток. Совместная экспрессия фитаспазы арабидопсиса с белком Hub, являющимся ингибитором клатрин-зависимого эндоцитоза, предотвращала возвращение фитаспазы внутрь клеток.

Таким образом, в настоящей работе впервые показано влияние окислительного стресса на локализацию фитаспазы арабидопсиса, а также было установлено, что ретроградный транспорт фитаспазы арабидопсиса опосредован клатрин-зависимым эндоцитозом.

Источники и литература

- 1) Chichkova et al., A Plant Caspase-Like Protease Activated during the Hypersensitive Response // Plant Cell. 2004, №16(1). p. 157-171.
- 2) Chichkova et al., Phytaspase, a Relocalisable Cell Death Promoting Plant Protease with Caspase Specificity // EMBO Journal. 2010, №29(6). p. 1149-1161.
- 3) Chichkova et al., Arabidopsis Thaliana Phytaspase: Identification and Peculiar Properties // Functional Plant Biology. 2017, №45(2). p. 171-179.

- 4) Trusova et al., Sometimes They Come Back: Endocytosis Provides Localization Dynamics of a Subtilase in Cells Committed to Cell Death // Journal of Experimental Botany. 2019, doi: 10.1093/jxb/erz014.